



TUGAS AKHIR - RE 141581

UJI KEMAMPUAN BAKTERI *Burkholderia Pseudomallei* UNTUK MENYISIHKAN LOGAM BESI (Fe)

RIZKY ISLAMI PUTERA
3314100003

Dosen Pembimbing
Harmin Sulistiyaning Titah, ST., MT., PhD.

DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN
Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan, dan Kebumihan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2018



TUGAS AKHIR – RE 141581

**UJI KEMAMPUAN BAKTERI *Burkholderia pseudomallei*
UNTUK MENYISIHKAN LOGAM BESI (Fe)**

RIZKY ISLAMI PUTERA

3314100003

Dosen Pembimbing

Harmin Sulistiyaning Titah, ST., MT., Ph.D.

DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN

Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan, dan Kebumihan

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Surabaya 2018



FINAL PROJECT – RE 141581

REMOVAL OF IRON METAL (Fe) USING *Burkholderia pseudomallei* BACTERIA

RIZKY ISLAMI PUTERA

3314100003

SUPERVISOR

Harmin Sulistiyaning Titah, ST., MT., Ph.D.

DEPARTEMEN OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING

Faculty of Civil, Environmental, and Geo Engineering

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Surabaya 2018

LEMBAR PENGESAHAN

UJI KEMAMPUAN BAKTERI *Burkholderia pseudomallei* UNTUK MENYISIHKAN LOGAM BESI (Fe)

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Teknik
Pada
Program Studi S-1 Departemen Teknik Lingkungan
Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan, dan Kebumihan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:
RIZKY ISLAMI PUTERA
NRP 3314100003

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir:



Harmin Sulistiyaning Titah, S.T., M.T., Ph.D.
NIP 197505232002122001



UJI KEMAMPUAN BAKTERI *Burkholderia pseudomallei* UNTUK MENYISIHKAN LOGAM BESI (Fe)

Nama Mahasiswa : Rizky Islami Putera
NRP : 3314100003
Jurusan : Teknik Lingkungan
Dosen Pembimbing : Harmin Sulistiyaning Titah, ST., MT., Ph.D.

ABSTRAK

Kegiatan pembongkaran kapal merupakan salah satu sumber pencemar logam besi pada daerah pesisir dan air laut. Besar konsentrasi rata-rata logam besi yang terdapat pada area pembongkaran kapal yaitu berkisar antara 0,33 mg/L hingga 160,5 mg/L. Pencemaran logam besi dalam konsentrasi tinggi dapat menimbulkan bahaya bagi organisme. Bioremediasi logam berat oleh mikroba adalah proses pengubahan molekul atau ion logam sehingga yang semula bersifat toksis menjadi berkurang kadar toksisitasnya. Salah satu bakteri hasil isolasi dan identifikasi bakteri yang berasal dari daerah pembongkaran kapal yang tercemar logam besi adalah bakteri *Burkholderia pseudomallei*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan *minimum inhibitory concentration* (MIC) bakteri terhadap logam besi dengan metode *screening*, menentukan persentase penyisihan logam besi oleh bakteri, dan menentukan laju kinetik penyisihan logam besi oleh bakteri.

Pada penelitian ini variabel yang digunakan adalah variasi salinitas dan variasi pH pada media. Konsentrasi logam besi disesuaikan dengan hasil uji MIC. Adapun konsentrasi logam besi yang digunakan pada uji MIC (dalam mg/L) adalah 0, 50, 100, 250, 500, dan 750. pH pada media tumbuh bakteri yang digunakan adalah pH normal dan pH optimum pada kondisi asam berdasarkan uji pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri. Penelitian ini terdiri dari 2 tahapan yaitu tahap pendahuluan dan tahap utama. Tahap pendahuluan terdiri dari peremajaan isolat bakteri, uji pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri, dan uji laju pertumbuhan bakteri. Tahap utama adalah uji penyisihan logam besi oleh bakteri disertai dengan uji parameter. Tahap utama dilakukan selama 4 hari. Parameter yang akan digunakan

adalah *optical density* (OD), pH, suhu, konsentrasi total besi, dan jumlah koloni bakteri.

Hasil penelitian ini menunjukkan nilai MIC dengan metode *screening* antara 100-250 mg/L logam besi terhadap bakteri *Burkholderia pseudomallei*. Berdasarkan hasil uji MIC, kadar logam yang digunakan pada uji penyisihan logam besi oleh bakteri sebesar 100 mg/L. Hasil uji penyisihan logam besi oleh bakteri *Burkholderia pseudomallei* menunjukkan bahwa proses penyisihan logam besi optimum pada pH 7. Reaktor dengan pH 7 memiliki persentase penyisihan sebesar 57,8 % pada salinitas 15 ppt (*parts per thousand*) dan 58,5 % pada salinitas 20 ppt. Salinitas berpengaruh terhadap persamaan kinetika penyisihan logam besi. Reaktor dengan pH 7 dan salinitas 15 ppt model persamaan kinetika *pseudo first order* menunjukkan hasil biosorpsi yang lebih baik ($R^2 = 0,7909$) dengan konstanta laju kinetika (k_1) sebesar $-0,123 \text{ jam}^{-1}$, sedangkan pada kondisi pH 7 dan salinitas 20 ppt model persamaan kinetika *pseudo second order* menunjukkan hasil biosorpsi yang lebih baik ($R^2 = 0,9668$) dengan konstanta laju kinetika (k_2) sebesar $-0,00038 \text{ mg/g.jam}$.

Kata kunci : *Burkholderia pseudomallei*, Laju kinetika, Logam besi, pH, Salinitas

REMOVAL OF IRON METAL (Fe) USING *Burkholderia pseudomallei* BACTERIA

Name of Student : Rizky Islami Putera
NRP : 3314100003
Study Programme : Teknik Lingkungan
Supervisor : Harmin Sulistiyaning Titah, ST., MT., Ph.D.

ABSTRACT

The activity of ship breaking is one of the sources of metal iron pollutants in coastal areas and sea water. The average concentration of iron metals in the ship breaking area ranged from 0,33 mg/L to 160,5 mg/L. Iron contamination in high concentrations can pose a danger to the organism. Bioremediation of heavy metals by microbes is the process of altering molecules or metal ions so that the former is toxic to be reduced levels of toxicity. One of the bacteria isolated and identification of bacteria originating from the shipbreaking areas contaminated with iron metal is *Burkholderia pseudomallei* bacteria. The purpose of this study was to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of bacteria to iron metal by screening method, to determine the percentage of iron removal by bacteria, and to determine the kinetic rate of iron metal removal by bacteria.

In this study variables used are variations of salinity and pH on media. The concentrations of the iron metals were used in a concentration adjusted to the MIC test results. Iron concentrations used in the MIC test (in mg/L) were 0, 50, 100, 250, 500, and 750. MIC test performed using screening method. The pH on bacterial growth medium used was normal pH and optimum pH on acidic conditions based on the pH effect test on bacterial growth. Salinity on bacteria growing media is 15 ppt and 20 ppt. This study consists of two stages, namely the introduction stage and the main stage. The preliminary stage consists of rejuvenation of bacterial isolates, the pH-affecting test of bacterial growth, and the bacterial growth rate test. The main stage is the iron removal test by the bacteria metal accompanied by the parameter test. The main stage is done for 4 days. The parameters to be used

are optical density (OD), pH, temperature, total iron concentration, and number of bacterial colonies.

The results of this study showed the value of MIC with screening method between 100-250 mg/L iron metal against *Burkholderia pseudomallei* bacteria. Based on the MIC test results, the metal content used in the iron metal removal test by bacteria is 100 mg/L. The results of iron removal test by *Burkholderia pseudomallei* bacteria showed that iron removal process optimum at pH 7. Reactor with pH 7 had a percentage of 57.8% at salinity of 15 ppt (parts per thousand) and 58.5 % at salinity 20 ppt. Salinity affects the kinetics equation of iron metal removal. The reactor with pH 7 and the salinity of 15 ppt model of pseudo first order kinetics equation showed better biosorption results ($R^2 = 0.7909$) with kostanta kinetics rate (k_1) of $-0.123 \text{ hours}^{-1}$, condition pH 7 and salinity 20 ppt model of pseudo second order kinetics equation showed better biosorption result ($R^2 = 0,9668$) with kostanta kinetics rate (k_2) equal to $-0,00038 \text{ mg/g.hours}$.

Keywords: *Burkholderia pseudomallei*, Iron metal, Kinetics rate, pH, Salinity

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir dengan judul “Uji Kemampuan Bakteri *Burkholderia pseudomallei* untuk menyisihkan logam besi (Fe)”.

Atas bimbingan dan pengarahan yang telah diberikan hingga terselesaikannya laporan tugas akhir ini, saya menyampaikan terima kasih kepada :

1. Ibu Harmin Sulistyaning Titah, ST., MT., Ph.D. selaku dosen pembimbing tugas akhir, terima kasih atas kesediaan, kesabaran, bantuan, waktu, dan ilmu yang diberikan selama proses bimbingan.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo, M.App.Sc, Dr. Ir. Rachmat Boedisantoso, MT., dan Dr. Abdu Fadli Assomadi, S.Si, MT. selaku dosen penguji tugas akhir, terima kasih atas saran serta bimbingannya.
3. Kedua Orang tua penulis, atas segala pengertian, kesabaran, dukungan, dan doanya.
4. Seluruh teman-teman angkatan 2014, Envijoyo yang telah memberikan semangat dan doanya.
5. Mas Fauzul, Mas Setyo, Mba Rima, Bu lin, dan Bu Merry yang telah banyak membantu, berdiskusi, dan memfasilitasi selama kegiatan di Laboratorium.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan laporan tugas akhir ini. Oleh karena itu penulis menerima kritik dan saran yang bersifat membangun agar penulisan laporan tugas akhir ini menjadi lebih baik. Semoga laporan tugas akhir ini bermanfaat bagi pembaca.

Surabaya, Januari 2018

Penyusun

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
ABSTRAK.....	v
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
BAB 1	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Ruang Lingkup	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Logam Besi sebagai Pencemar	5
2.2 Karakteristik Bakteri <i>Burkholderia pseudomallei</i>	6
2.3 Mekanisme Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri.....	8
2.4 Pertumbuhan Bakteri	11
2.5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri	13
2.6 Parameter Uji pada Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri	15
2.7 Model Persamaan Kinetika <i>Pseudo First Order</i> dan <i>Pseudo Second Order</i>	17
BAB 3	19
METODE PENELITIAN	19
3.1 Kerangka Penelitian	19
3.2 Ide Penelitian	19
3.3 Studi Literatur.....	21
3.4 Persiapan Penelitian	21
3.5 Peremajaan Isolat Bakteri	23
3.6 Uji Pengaruh pH pada Kondisi Asam terhadap Pertumbuhan Bakteri	23
3.7 Uji Laju Pertumbuhan Bakteri.....	24

3.8	Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> dengan Metode <i>Screening</i>	25
3.9	Uji Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri dan Uji Parameter	26
3.10	Perhitungan Laju Kinetika Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri	29
3.11	Hasil dan Pembahasan	30
3.12	Kesimpulan dan Saran	31
BAB 4	33
HASIL DAN PEMBAHASAN.....		33
4.1	Penelitian Pendahuluan	33
4.1.1	Uji Pengaruh pH pada Kondisi Asam terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Burkholderia pseudomallei</i>	33
4.1.2	Uji Laju Pertumbuhan Bakteri <i>Burkholderia pseudomallei</i>	34
4.1.3	Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> dengan Metode <i>Screening</i>	35
4.2	Penelitian Utama	38
4.2.1	Uji Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri dan Uji Parameter	38
4.2.1.1	Analisis Parameter <i>Optical Density</i>	39
4.2.1.2	Analisis Parameter Suhu	40
4.2.1.3	Analisis Parameter pH.....	41
4.2.1.4	Analisis Parameter Jumlah Koloni Bakteri	42
4.2.1.5	Analisis Parameter Total Logam Besi.....	44
a.	Analisis Pengaruh pH terhadap Penyisihan Logam Besi	47
b.	Analisis Pengaruh Salinitas terhadap Penyisihan Logam Besi	48
4.2.2	Laju Kinetika Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri.....	49
4.2.2.1	Pengukuran Konsentrasi Biomassa Sel Bakteri	49
4.2.2.2	Perhitungan Laju Kinetika Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri	50
BAB 5	55
KESIMPULAN DAN SARAN		55
5.1	Kesimpulan	55
5.2	Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA		57
Lampiran 1 Peremajaan Isolat Bakteri.....		65

Lampiran 2 Tahapan Uji Laju Pertumbuhan Bakteri (<i>single culture microorganism</i>).....	67
Lampiran 3 Tahapan Inokulasi Bakteri Ke Media yang Mengandung Logam Besi	69
Lampiran 4 Prosedur Pengukuran Konsentrasi Biomassa Sel Bakteri	71
Lampiran 5 Hasil Pengukuran AAS	73
Lampiran 6 Dokumentasi Kegiatan	75
Lampiran 7 Hasil Perhitungan	77
BIOGRAFI PENULIS	87

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Diagram Kelarutan Berbagai Logam terhadap pH ...	5
Gambar 2. 2 Bakteri <i>Burkholderia Pseudomallei</i>	7
Gambar 2. 3 Kurva pertumbuhan bakteri	12
Gambar 3. 1 Kerangka Penelitian	20
Gambar 3. 2 Reaktor uji pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri	24
Gambar 3. 3 Reaktor uji laju pertumbuhan bakteri	25
Gambar 3. 4 Reaktor uji MIC dengan metode <i>screening</i>	25
Gambar 3. 5 Reaktor uji penyisihan logam besi oleh bakteri.....	27
Gambar 3. 6 Reaktor uji pengukuran konsentrasi biomassa sel bakteri	29
Gambar 4. 1 Kurva Laju Pertumbuhan Bakteri <i>Burkholderia pseudomallei</i>	34
Gambar 4. 2 Uji MIC Bakteri <i>Burkholderia pseudomallei</i> dengan Metode <i>Screening</i>	36
Gambar 4. 3 OD Uji Penyisihan logam Besi oleh Bakteri <i>Burkholderia pseudomallei</i>	39
Gambar 4. 4 Suhu Uji Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri oleh Bakteri <i>Burkholderia pseudomallei</i>	40
Gambar 4. 5 pH Uji Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri <i>Burkholderia pseudomallei</i>	41
Gambar 4. 6 Jumlah Koloni Bakteri	43
Gambar 4. 7 Persentase Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri <i>Burkholderia pseudomallei</i>	45
Gambar 4. 8 Grafik Konsentrasi Biomassa Sel Bakteri	50
Gambar 4. 9 Model Persamaan Kinetika <i>Pseudo First Order</i> pada Reaktor Uji S1P1	51
Gambar 4. 10 Model Persamaan Kinetika <i>Pseudo First Order</i> pada Reaktor Uji S2P1	52
Gambar 4. 11 Model Persamaan Kinetika <i>Pseudo Second Order</i> pada Reaktor Uji S1P1.....	52
Gambar 4. 12 Model Persamaan Kinetika <i>Pseudo Second Order</i> pada Reaktor Uji S2P1.....	53

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Variabel Perlakuan antara Konsentrasi Logam Besi dengan pH media.....	27
Tabel 4. 1 Jumlah Koloni Bakteri pada media dengan berbagai variasi pH.....	33
Tabel 4. 2 Skoring Pertumbuhan bakteri pada Uji MIC	37
Tabel 4. 3 Kadar Total Besi dengan metode AAS	44

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Peremajaan Isolat Bakteri	65
Lampiran 2 Tahapan Uji Laju Pertumbuhan Bakteri (<i>single culture microorganism</i>).....	67
Lampiran 3 Tahapan Inokulasi Bakteri Ke Media yang Mengandung Logam Besi	69
Lampiran 4 Prosedur Pengukuran Konsentrasi Biomassa Sel Bakteri	71
Lampiran 5 Hasil Pengukuran AAS	73
Lampiran 6 Dokumentasi Kegiatan	75
Lampiran 7 Hasil Perhitungan	77

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu kegiatan industri yang menghasilkan pencemar logam besi adalah kegiatan pembongkaran kapal. Kegiatan pembongkaran kapal merupakan salah satu sumber pencemar logam besi pada daerah pesisir dan air laut. Kegiatan pembongkaran kapal menyebabkan masalah seperti kerusakan dan pencemaran pada zona pesisir, air laut, dan sendimen di tempat pembongkaran dilakukan (Kacar dan Kocyigit, 2013). Konsentrasi rata-rata dari logam berat yang terdapat pada area pembongkaran kapal berdasarkan urutan yaitu $\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Mn} > \text{Cd} > \text{Pb} > \text{Co} > \text{Ni} > \text{Cr}$ (Basha *et al.*, 2006). Logam besi atau *ferrum* menjadi logam berat dengan konsentrasi rata-rata paling tinggi dibandingkan dengan logam berat lainnya yang terdapat di area pembongkaran kapal. Besar konsentrasi rata-rata logam besi yang terdapat pada area pembongkaran kapal yaitu berkisar antara 0,33 mg/L – 160,5 mg/L (Hasan *et al.*, 2013). Menurut ANZECC dan ARMCANZ (2000), pada air laut dengan pH > 6 kadar logam besi yang diizinkan lebih kecil dari 1 mg/L. Berdasarkan pada Peraturan Menteri Kesehatan No.492 Tahun 2010, pada air minum batas maksimum kandungan total logam besi sebesar 0,3 mg/L.

Logam besi merupakan salah satu logam berat esensial yang keberadaannya dalam jumlah tertentu sangat dibutuhkan oleh organisme hidup, namun dalam jumlah yang berlebihan dapat menimbulkan efek racun (Ika *et al.*, 2012). Logam besi dalam konsentrasi tinggi yang mencemari lingkungan dapat menimbulkan bahaya bagi organisme (Pamungkas dan Zulaika, 2015). Hal ini berkaitan dengan sifat-sifat logam berat yang sulit didegradasi, sehingga mudah terakumulasi dalam lingkungan perairan dan keberadaannya secara alami sulit dihilangkan. Logam berat dapat terakumulasi dalam biota perairan termasuk kerang, ikan, dan sedimen memiliki waktu paruh yang tinggi dalam tubuh biota laut serta memiliki nilai faktor konsentrasi yang besar dalam tubuh organisme (Supriantini dan Endrawati, 2015).

Kadar besi lebih besar dari 1 mg/L dianggap membahayakan mikroorganisme akuatik (Moore, 1991).

Zat yang menimbulkan pencemaran terhadap lingkungan harus segera diolah atau dinetralkan agar tidak mengganggu kehidupan di sekitar area tersebut. Penurunan kadar logam berat besi saat ini masih menggunakan metode fisika dan kimia seperti pertukaran ion, presipitasi, koagulasi, *inverse osmosis*, dan adsorpsi. Metode fisik dan kimia cukup efisien tetapi akan sangat merugikan jika digunakan untuk mengolah limbah industri karena relatif mahal, membutuhkan energi dan bahan kimia yang cukup besar (Atkinson *et al.*, 1998; Zulaika *et al.*, 2012). Sehingga perlu dicari alternatif pengolahan yang mudah, murah dan efektif dalam pengaplikasiannya.

Selain metode secara fisik dan kimia, pencegahan dan penanggulangan pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh logam berat besi dapat pula dilakukan secara biologis. Beberapa diantaranya yaitu menggunakan sistem bioremediasi menggunakan bakteri atau mikroorganisme lainnya. Bioremediasi logam berat oleh mikroba adalah proses pengubahan molekul atau ion logam sehingga yang semula bersifat toksis menjadi berkurang kadar toksisitasnya (Yazid, 2007). Bioremediasi terbukti sangat efektif dan murah dari sisi ekonomi untuk membersihkan tanah dan air yang terkontaminasi oleh senyawa-senyawa kimia toksik dan beracun. Bioremediasi menggunakan bakteri lebih *feasible* sebab bakteri dapat melakukan mekanisme degradasi dan transformasi logam berat, salah satu mekanisme tersebut adalah biosorpsi dan bioakumulasi (Vijayaraghavan dan Yun, 2008; Zulaika *et al.*, 2012)

Isolasi bakteri dari lingkungan yang tercemar logam berat sangat berpotensi digunakan sebagai agensia bioremediasi, sebab bakteri tersebut mempunyai daya resistensi dan toleransi terhadap logam berat yang ada di sekitarnya (Zulaika *et al.*, 2012). Salah satu bakteri hasil isolasi dan identifikasi bakteri yang berasal dari daerah pembongkaran kapal yang tercemar logam besi adalah bakteri *Burkholderia pseudomallei*. *Burkholderia pseudomallei* menghasilkan *hydroxamate* tipe siderophore dan *malleobactin* yang dapat menyisihkan logam besi secara signifikan (Alice *et al.*, 2006). Siderophore memiliki berat molekul yang rendah yang memudahkan pelarutan dan pengangkutan

besi oleh bakteri *Burkholderia pseudomallei* (Crosa, 1989). Genus *Burkholderia* diketahui menggunakan empat jenis siderophore, yaitu *pyochelin*, *ornibactin*, *cepabactin* dan *cepaciachelin* untuk melarutkan dan mengangkut logam besi (Thomas, 2007).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka teknik yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji kemampuan bakteri *Burkholderia pseudomallei* dalam menyisihkan logam besi.

1.2 Rumusan Masalah

Pencemar logam besi yang dapat membahayakan lingkungan sekitar karena besi termasuk logam berat yang bersifat toksik. Pencemaran logam besi terhadap lingkungan dapat dicegah dengan teknologi yang ramah lingkungan salah satunya adalah bioremediasi. Bioremediasi logam besi dapat disisihkan menggunakan bakteri *Burkholderia pseudomallei* untuk menurunkan konsentrasi logam besi.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Menentukan *minimum inhibitory concentration* bakteri *Burkholderia pseudomallei* terhadap logam besi dengan metode *screening*.
2. Menentukan persentase penyisihan logam besi oleh bakteri *Burkholderia pseudomallei*.
3. Menentukan laju kinetik penyisihan logam besi oleh bakteri *Burkholderia pseudomallei*.

1.4 Ruang Lingkup

Ruang Lingkup dari penelitian ini adalah :

1. Penelitian dilakukan dalam skala laboratorium yang akan dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia ITS dan Laboratorium Remediasi Lingkungan Departemen Teknik Lingkungan FTSLK ITS.
2. Jenis mikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Burkholderia pseudomallei*.
3. Jenis media yang digunakan *regrowth* mikroorganisme yaitu Media *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrien Broth* (NB) untuk bakteri *Burkholderia pseudomallei*.

4. Sampel menggunakan limbah cair buatan yang mengandung besi (Fe).
5. Variabel yang digunakan adalah variasi salinitas dan variasi pH pada media.
6. Analisis total besi (Fe) dilakukan dengan teknik *Atomic Absorption Spectrofotometer* (AAS).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

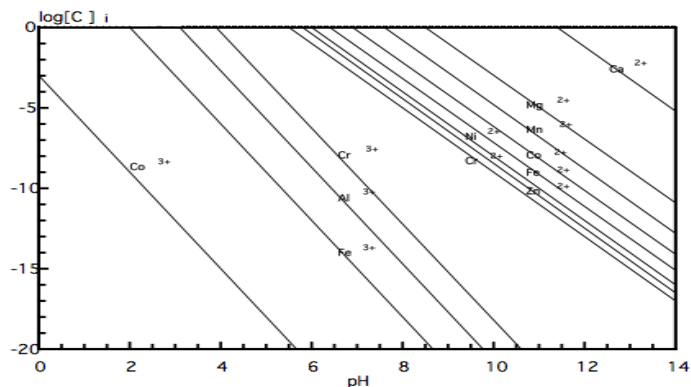
1. Sebagai salah satu alternatif untuk menyisihkan logam besi (Fe).
2. Sebagai dasar dari penelitian lanjutan yang akan dilakukan mengenai uji kemampuan bakteri *Burkholderia pseudomallei* untuk menyisihkan logam besi (Fe).

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Logam Besi sebagai Pencemar

Keberadaan logam berat di lingkungan dalam konsentrasi tinggi merupakan pencemaran dan permasalahan lingkungan yang sangat penting sehingga dapat menimbulkan permasalahan ekologi yang serius (Zulaika *et al.*, 2012). Pencemaran logam berat dapat berasal dari beberapa industri seperti industri pelepasan logam, cat dan pewarnaan, baterai basah atau *accu*, fotografi, dan *printing* / percetakan, kegiatan pertambangan, pembuangan *sludge*, *fly ash* dari insenerator, proses radio aktif, *pulp* dan kertas, penyamakan kulit, pupuk petrokimia, pestisida dan lain-lain (Ratnawati *et al.*, 2010). Logam berat sangat banyak dimanfaatkan dalam industri, baik sebagai bahan baku, katalisator, fungisida maupun sebagai *additive*. Keberadaan logam berat pada konsentrasi yang tinggi akan menyebabkan peningkatan logam pada kelenjar seluler dan menggantikan posisi logam penting dari ikatan yang terbentuk ada kondisi normal. Efek toksistas logam yang umum terjadi pada bakteri berupa penurunan jumlah biomassa (Abou-Shanab *et al.*, 2008).



Gambar 2. 1 Diagram Kelarutan Berbagai Logam terhadap pH
Sumber : www.wiki.biomine.skelleftea.se

Pencemaran logam besi berasal dari kegiatan industri salah satunya adalah kegiatan pembongkaran kapal. Besi memiliki sifat toksik terhadap makhluk hidup umumnya dalam bentuk ion. Logam besi yang ada di dalam air dapat bersifat terlarut berbentuk ion bervalensi dua (Fe^{2+}) dan bervalensi tiga (Fe^{3+}). Dalam bentuk ikatan dapat berupa Fe_2O_3 , $\text{Fe}(\text{OH})_2$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ atau FeSO_4 tergantung dari unsur lain yang mengikatnya. Pada pembentukan Fe^{3+} , oksidasi terhidrat yang tidak larut menyebabkan air berubah menjadi abu-abu. Fe^{2+} dapat menjadi jenis yang sangat stabil yang larut dalam sumber air yang kekurangan oksigen. Pada air sungai yang mengalir dan terjadi aerasi, Fe^{2+} teroksidasi menjadi Fe^{3+} yang sulit larut pada pH 6 sampai 8, bahkan dapat menjadi $\text{Fe}(\text{OH})_3$ atau salah satu jenis oksida yang merupakan zat padat dan bisa mengendap. Ion FeOH^{2+} dapat terbentuk dalam perairan yang bersifat basa, tetapi jika ada CO_2 maka terbentuk FeCO_3 yang tidak larut. Fe^{2+} dapat membentuk kompleks yang stabil dengan zat organik yang larut dalam air. Kelarutan logam besi dalam perairan sangat dipengaruhi oleh nilai pH. Dalam perairan dengan pH rendah, kedua ion *ferro* (Fe^{2+}) dan ion *ferri* (Fe^{3+}) dapat ditemukan (Alaerts dan Sumestri, 1987). Diagram kelarutan berbagai logam terhadap pH dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Berdasarkan pada Peraturan Menteri Kesehatan No.492 Tahun 2010, pada air minum batas maksimum kandungan total logam besi sebesar 0,3 mg/L. Senyawa besi dalam jumlah besar dapat berdampak terhadap kesehatan manusia diantaranya bisa menyebabkan keracunan (muntah), kerusakan usus, penuaan dini hingga kematian mendadak, radang sendi, cacat lahir, gusi berdarah, kanker, sirosis ginjal, sembelit, diabetes, diare, pusing, mudah lelah, hepatitis, hipertensi, insomnia (Parulian, 2009; Supriantini dan Endrawati, 2015). Kadar besi lebih besar dari 1 mg/L dianggap membahayakan mikroorganisme akuatik (Moore, 1991).

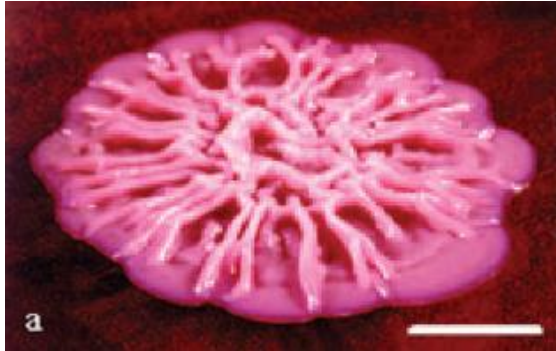
2.2 Karakteristik Bakteri *Burkholderia pseudomallei*

Klasifikasi bakteri *Burkholderia pseudomallei* adalah sebagai berikut :

Domain : Bacteria

Filium : Proteobacteria

Kelas : Beta Proteobacteria
Order : Burkholderiales
Family : Burkholderiaceae
Genus : Burkholderia



Gambar 2. 2 Karakteristik *Burkholderia pseudomallei* pada media Ashdown's selective agar

Sumber : Inglis dan Sagripati, 2006

Burkholderia pseudomallei adalah bakteri berbentuk batang, gram negatif, bipolar, aerobik, dan motil. Bakteri ini adalah bakteri endemik tanah yang terdapat di daerah tropis dan subtropis (Limmathurotsakul *et al.*, 2016). *Burkholderia pseudomallei* memiliki panjang sebesar 2-5 μm dan lebar sebesar 0,4-0,8 μm serta mampu menggerakkan diri sendiri dengan menggunakan flagella. *Burkholderia pseudomallei* memiliki suhu optimal sekitar 40° C di lingkungan netral atau sedikit asam (Haasae *et al.*, 1997). *Burkholderia pseudomallei* memiliki metabolisme yang unik dan dapat digunakan sebagai agen bioremediasi (Coenye dan Vandamme, 2003). *Burkholderia pseudomallei* menghasilkan *hydroxamate* tipe siderophore dan *malleobactin* yang dapat menyisihkan logam besi secara signifikan (Alice *et al.*, 2006). Genus *Burkholderia* diketahui menggunakan empat siderophore, yaitu *pyochelin*, *ornibactin*, *cepabactin* dan *cepaciachelin* untuk melarutkan dan mengangkut logam besi (Thomas, 2007). Gambar karakteristik *Burkholderia*

pseudomallei pada media *Ashdown's selective agar* dapat dilihat pada Gambar 2.2.

Pyochelin adalah siderophore yang terstruktur secara struktural dari kelas fenolat, yaitu produk kondensasi asam salisilat dan dua molekul sistein (Cox *et al.*, 1981; Thomas, 2007). *Ornibactin* adalah hidroksamat linier atau hidroksikarboksilat siderophora (Stephan *et al.*, 1993). *Malleobactin* yang dihasilkan oleh *Burkholderia pseudomallei*, mirip dengan *ornibactin* untuk struktur dan mekanisme biosintesis (Thomas, 2007; Franke *et al.*, 2013). *Cepabactin* adalah hydroxamate siklik, yang mampu mengangkut zat besi untuk pertumbuhan bakteri (Meyer *et al.*, 1989).

2.3 Mekanisme Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri

Besi memiliki sifat toksik terhadap makhluk hidup umumnya dalam bentuk ion. Logam besi yang ada di dalam air dapat bersifat terlarut berbentuk ion bervalensi dua (Fe^{2+}) dan bervalensi tiga (Fe^{3+}) (Alaerts dan Sumestri, 1987). Salah satu cara untuk menyisihkan logam besi adalah proses bioremediasi (Kumar *et al.*, 2011). Bioremediasi memanfaatkan mikroorganisme untuk menyisihkan pencemar lingkungan, mencegah polusi, dan menghilangkan pencemar dari lingkungan (Vidali, 2001).

Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya untuk menurunkan kadar polutan tersebut. Pada saat proses bioremediasi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi struktur polutan beracun menjadi metabolit yang tidak beracun dan berbahaya (Priadie, 2012). Bioremediasi merupakan salah satu bioteknologi yang dapat digunakan untuk memperbaiki ekosistem, merubah polutan menjadi substrat, menghasilkan materi yang *biodegradable* dari sumber daya alam dan mengembangkan produksi manufaktur yang ramah lingkungan (Kumar, *et al.*, 2011). Onrizal (2005) menyatakan bahwa pada proses bioremediasi *uptake* ion logam berat dapat dilihat dari segi aktif dan pasif prosesnya. Kedua proses ini dimungkinkan berjalan secara bersamaan. Ketika ion logam berat tersebar pada permukaan sel bakteri, ion logam berat akan terikat pada

permukaan sel bakteri berdasarkan kemampuan daya afinitas kimia yang dimiliki sel bakteri tersebut.

Passive uptake merupakan proses pengikatan ion logam berat pada dinding sel. Proses ini dapat terjadi dengan dua cara yang berbeda. Pertama pertukaran ion monovalen dan divalen seperti Na, Mg, dan Ca pada dinding sel bakteri digantikan dengan ion-ion logam berat. Kedua adalah pembentukan senyawa kompleks antara ion logam berat dengan gugus fungsional seperti carbonyl, amino, thiol, hydroxyl, phosphate, dan hydroxy-carboxyl yang berada pada dinding sel. Proses ini bersifat bolak-balik dan berlangsung secara cepat. Proses bolak-balik ikatan ion logam berat di permukaan sel bakteri ini dapat terjadi pada sel hidup maupun sel mati dari suatu biomassa bakteri. Proses tersebut dapat berlangsung secara efektif pada pH tertentu dan kehadiran ion-ion lainnya pada media sehingga ion logam berat dapat terendapkan sebagai garam yang tidak larut.

Active uptake dapat terjadi pada berbagai tipe sel hidup bakteri. Mekanisme ini secara simultan terjadi sejalan dengan konsumsi ion logam untuk pertumbuhan bakteri atau akumulasi intraseluler ion logam berat tersebut. Logam berat dapat juga diendapkan pada proses metabolisme dan ekskresi pada tingkat ke dua. Proses ini bergantung pada energi yang terkandung dan sensitifitasnya terhadap parameter-parameter yang berpengaruh seperti pH, suhu, kekuatan ikatan ionik, dan lain-lain. Proses ini akan terhambat pada suhu yang rendah, minimnya sumber energi yang tersedia, dan penghambat metabolisme sel bakteri lainnya. Bioremediasi logam berat dengan sel hidup bakteri terbatas oleh efek racun yang disebabkan oleh akumulasi ion logam berat pada bakteri.

Mekanisme penyisihan logam besi oleh bakteri dapat dilakukan secara aerobik maupun anaerobik. Penyisihan logam besi oleh bakteri secara aerobik dapat terjadi dalam tiga proses yaitu biosorpsi, bioakumulasi, dan biotransformasi (Ahemad, 2012). Biosorpsi merupakan proses penyisihan logam berat melalui pengikatan pasif pada biomassa mikroorganisme melalui proses metabolisme. Biosorpsi merupakan salah satu metode alternatif untuk menghilangkan ion logam berat dalam air limbah karena biayanya murah dan ketersediaan biosorbennya mudah

dan melimpah (Naimah dan Ermawati, 2011). Proses biosorpsi logam terjadi karena kompleksitas ion logam yang bermuatan positif dengan pusat aktif yang bermuatan negatif pada permukaan dinding sel atau dalam polimer-polimer ekstraseluler, seperti protein dan polisakarida sebagai sumber gugus fungsi yang berperan penting dalam mengikat ion logam. Proses penyerapan ini berlangsung cepat dan terjadi pada sel hidup maupun sel yang telah mati (Vieira dan Volesky, 2000). Selain itu biosorpsi juga terjadi karena adanya peristiwa pertukaran ion dimana ion monovalent dan divalent seperti Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+ pada dinding sel digantikan oleh ion-ion logam berat (Suhendrayatna, 2001).

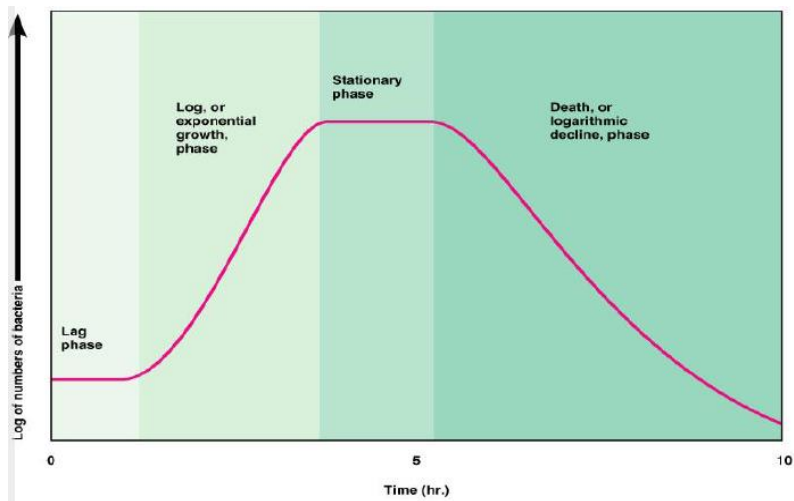
Menurut Ahayla *et al.* (2003), mekanisme proses biosorpsi dapat dibedakan berdasarkan bantuan dari proses metabolisme sel. Berdasarkan bantuan dari proses metabolisme sel, mekanisme proses biosorpsi dapat dibagi menjadi 2 yaitu proses yang bergantung pada metabolisme sel (*metabolism dependent*) dan proses yang tidak bergantung pada metabolisme sel (*non-metabolism dependent*). Pada proses biosorpsi yang bergantung pada metabolisme sel (*metabolism dependent*), terjadi perpindahan logam melalui membran sel mikroba dengan mekanisme yang sama yang dilakukan untuk membawa ion-ion yang dibutuhkan untuk proses metabolisme seperti kalium, magnesium, dan natrium. Terjadinya mekanisme ini biasanya berkaitan dengan dengan sistem pertahanan aktif bakteri sebagai reaksi terhadap keberadaan logam toksik. Sedangkan pada proses yang tidak bergantung pada metabolisme sel (*non-metabolism dependent*), proses penyerapan logam dilakukan melalui interaksi fisik-kimia antara logam dengan gugus fungsional yang terdapat pada permukaan sel bakteri. Dinding sel pada bakteri terutama terdiri dari polisakarida, protein, dan lemak yang memiliki gugus pengikat logam yang berlimpah seperti karboksil, sulfat, fosfat, dan gugus amina. Mekanisme ini terjadi karena adanya proses secara fisik, pertukaran ion, dan proses penyerapan secara kimia yang tidak bergantung pada proses metabolisme sel bakteri. Proses biosorpsi yang tidak bergantung pada proses metabolisme sel biasanya berlangsung secara cepat dan dapat berbalik.

Secara umum proses biosorpsi atau penyisihan logam berat oleh sel hidup bakteri terdiri dari 2 langkah proses. Pertama proses yang berjalan dengan cepat dimana terjadi pengikatan / penyerapan ion logam berat pada permukaan sel bakteri karena adanya sisi aktif dalam jumlah yang besar. Proses ini tidak bergantung pada proses metabolisme sel bakteri. Kedua adalah proses difusi intraseluler yang terjadi lebih lambat dan tergantung pada *veability* sel bakteri, dimana ion logam berat ditrasfer melalui membran sel (Yuncu *et al.*, 2006).

Proses selanjutnya yaitu proses bioakumulasi. Bioakumulasi pada dasarnya merupakan proses penyerapan logam berat yang lebih lanjut dari proses biosorpsi (Ahalya *et al.* 2003). Bioakumulasi merupakan proses pengambilan ion logam secara aktif yang melibatkan siklus metabolisme bakteri dengan memanfaatkan enzim yang dihasilkan oleh bakteri tersebut (Triatmojo *et al.*, 2001). Pada proses biakumulasi, logam besi masuk kedalam membran sel melalui *sulfat chanel* yang terdapat pada dinding sel bakteri sehingga logam besi bereaksi secara spontan dengan reduktan intraseluler seperti askorbat dan *glutation* untuk merubah logam besi yang bersifat toksik menjadi besi intermediet, radikal bebas dan logam besi bersifat *less toxic*. Pada proses ini disebut proses biotransformasi.

2.4 Pertumbuhan Bakteri

Tipe pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh lingkungan dan nutrisi yang terkandung didalamnya. Kurangnya nutrisi dapat menyebabkan berhentinya pertumbuhan bakteri (Sarhini, 2012). Bila bakteri diinokulasikan ke dalam medium baru, pembiakan tidak segera terjadi tetapi ada periode penyesuaian pada lingkungan yang dikenal dengan pertumbuhan adaptif. Kemudian akan memperbanyak diri dengan laju yang konstan, sehingga akan diperoleh kurva pertumbuhan. Pada kurva pertumbuhan dikenal beberapa fase pertumbuhan yaitu dengan fase penyesuaian, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian (Astuti, 2010). Fase pertumbuhan bakteri secara umum dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Kurva pertumbuhan bakteri

Sumber : Astuti, 2010

Fase lag terjadi peningkatan ukuran sel, pada waktu ini sel belum terlalu banyak membelah. Sel mulai memperbanyak diri secara lambat setelah menyesuaikan diri dalam medium baru. Fase eksponensial terjadi pertumbuhan seimbang, sel membelah dengan kecepatan yang tetap dan maksimal. Pertumbuhan yang paling cepat terjadi pada fase eksponensial ini. Fase stasioner ditandai dengan penurunan kecepatan pertumbuhan (pembelahan bakteri berkurang), terjadi karena penumpukan limbah metabolisme, racun, kekurangan nutrisi, dan perubahan kondisi pada lingkungan. Pertumbuhan sel yang hidup masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati. Fase kematian ditandai dengan jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup karena nutrisi semakin menurun (bahkan habis), energi cadangan di dalam sel juga habis dan terkumpulnya produk limbah. Pada fase kematian eksponensial tidak diamati pada kondisi umum pertumbuhan kultur bakteri kecuali bila kematian dipercepat dengan penambahan zat kimia toksik, panas atau radiasi (Tarigan, 1988).

2.5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Menurut Sarbini (2012), faktor-faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah :

a. Substrat

Semua bakteri membutuhkan substrat sebagai sumber karbon dan energi. Karbon diperlukan untuk proses pertumbuhan sel dan reproduksi. Sumber karbon yang digunakan oleh bakteri berasal dari senyawa organik. Senyawa organik sebagian terasimilasi ke dalam substansi sel dan sebagian di oksidasi untuk memperoleh energi. Senyawa-senyawa organik alamiah yang banyak terdapat di bumi adalah polisakarida, selulosa, dan pati. Komponen monomer dari senyawa ini yang paling banyak dimanfaatkan adalah glukosa.

Bakteri juga memerlukan mineral-mineral dan zat pelengkap lainnya yang disebut suplemen. Mineral-mineral yang dibutuhkan antara lain yaitu mangan, molibden, seng, tembaga, dan lain-lain. Sedangkan zat-zat pelengkap yang dibutuhkan terdiri dari 3 kelompok zat, yaitu asam amino, senyawa purin, dan senyawa pirimidin.

Pada dasarnya kebutuhan nutrisi bakteri hampir sama dengan komposisi dari sel-sel bakteri tersebut. Struktur kimia bakteri diperkirakan mendekati $C_5H_7O_2N$. Karbon diperoleh dari senyawa organik seperti glukosa, tetapi ada juga beberapa yang menggunakan senyawa organik, seperti karbonat dan bikarbonat sebagai sumber karbon. Hidrogen dan oksigen diperoleh dari air. Nitrogen, fosfor, dan sulfur diperoleh dari senyawa organik dan anorganik.

b. Temperatur

Setiap mikroorganisme hanya dapat tumbuh pada temperatur dengan rentang tertentu. Berdasarkan temperatur, bakteri dibedakan menjadi tiga golongan yaitu bakteri termofilik, bakteri mesofilik dan bakteri psikrofilik. Bakteri termofilik memiliki rentang temperatur berkisar antara 40-80 °C. Untuk bakteri mesofilik memiliki rentang temperatur berkisar antara 10-45 °C. Sedangkan bakteri psikrofilik memiliki rentang temperatur berkisar antara 0-35 °C.

Banyaknya reaksi kimia di dalam proses metabolisme bakteri yang dipengaruhi oleh panas, semakin tinggi temperatur maka semakin baik reaksi kimia yang terjadi. Pada temperatur tertentu dapat merubah struktur enzim sehingga menyebabkan turunnya aktivitas bakteri disebut dengan temperatur maksimum.

c. pH

Kebanyakan bakteri tumbuh dengan subur pada pH netral. pH mempengaruhi kemampuan bakteri untuk mengadakan traspor membran sel dan kesetimbangan dari reaksi katalisis. Pada pH 5 atau kurang dari itu, proses pertumbuhan bakteri akan sangat lambat. Pada umumnya pH harus mendekati 7 dengan rentang 4-10 agar bakteri dapat tumbuh. Untuk oksidasi nitrogen dan fermentasi metana, rentang pH terbatas dari 6-8. Degradasi hidrokarbon menjadi lebih cepat pada pH diatas 7.

pH yang terdapat di lingkungan tidak sepenuhnya disebabkan oleh aktivitas bakteri tetapi juga disebabkan adanya garam anorganik di dalam tanah dan air mineral. Kemampuan bakteri untuk mengubah pH adalah akibat adanya interaksi antara spesies. Penggunaan karbon dan energi, efisiensi penggunaan substrat, sintesis protein, sintesis berbagai mineral dan peelpasan produk metabolisme dari sel sangat dipengaruhi oleh perubahan pH.

d. Oksigen

Menurut Trihadiningrum (2012), mikroorganisme diklasifikasikan menjadi 4 kelompok atas dasar kebutuhannya akan oksigen, yaitu:

1. Mikroorganisme aerobik, yaitu kelompok mikroorganisme yang memerlukan oksigen untuk melakukan respirasi seluler.
2. Mikroorganisme anaerobik obligat, yaitu kelompok mikroorganisme yang tidak dapat hidup dan berkembang biak dalam lingkungan yang mengandung oksigen. Hal ini disebabkan adanya enzim-enzim yang sangat sensitif dan tidak dapat berfungsi bila terdapat oksigen.
3. Mikroorganisme anaerobik fakultatif, yaitu kelompok mikroorganisme yang dapat hidup dengan atau tanpa kehadiran oksigen.

4. Mikroorganisme mikroaerofilik, yaitu mikroorganisme aerobik yang hanya memerlukan tekanan oksigen rendah.

e. Salinitas

Salinitas mempengaruhi tekanan osmotik yang terjadi pada mikroorganisme. Tekanan osmotik terjadi akibat dari perbandingan zat terlarut di dalam sel dan di luar sel tidak sama. Umumnya bakteri akan tumbuh dengan baik dalam substrat yang memiliki tekanan yang sedikit lebih rendah dari tekanan osmotik di dalam selnya (Sari *et al.*, 2011).

2.6 Parameter Uji pada Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri

a. *Optical Density* (OD)

Penentuan atau penghitungan jumlah sel dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri dengan mengukur nilai OD (*Optical Density* = kepadatan bakteri yang terlihat sebagai kekeruhan medium) pada panjang gelombang tertentu. Spektrofotometri adalah suatu alat yang dapat menunjukkan kepekatan suatu zat. Spektrofotometri bekerja dengan cara menembakkan cahaya pada sampel. Cara kerja spektrofotometer ialah cahaya dilewatkan pada sampel, dimana terdapat media dengan bakteri yang akan menyerap cahaya, lalu cahaya yang dilewatkan pada sampel akan ditangkap oleh detektor. Cahaya yang mampu diteruskan oleh sampel akan terbaca pada detektor sebagai %T, dan cahaya yang tidak diteruskan (terhalang oleh sampel) akan dibaca sebagai absorbansi. Persen transmittan memiliki hubungan langsung dengan *optical density* dan juga absorbansi, dimana ketika T semakin tinggi, maka cahaya yang dilewatkan semakin banyak, maka absorbansi dan *optical density* semakin kecil, dalam artian jumlah kekeruhan dan bakteri dalam sampel semakin sedikit. Pada spektrofotometer sumber cahaya merupakan cahaya monokromatik (Benson, 2001).

Dwipayana dan Aresyady (2010) menyatakan metode uji pertumbuhan bakteri dengan pengukuran nilai *optical density* merupakan salah satu metode tidak langsung yang tidak dapat membedakan bakteri yang hidup dan bakteri yang mati, sehingga

nilai OD akan cenderung naik selama waktu pengujian berlangsung.

b. pH

Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri berkaitan dengan aktifitas enzim. Beberapa bakteri membutuhkan enzim untuk mengkatalis beberapa reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Kinerja enzim-enzim tersebut akan terganggu apabila pH pada suatu medium atau lingkungan tidak optimal yang menyebabkan terganggunya pertumbuhan bakteri itu sendiri (Pelczar dan Chan, 1986; Suriani *et al.*, 2013). Menurut Sarbini (2012) pH mempengaruhi kemampuan mikroorganisme untuk mengadakan traspor membran sel. pH juga berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri berkaitan dengan aktifitas enzim (Suriani *et al.*, 2013). Proses penyisihan logam berat akan optimal pada pH optimum (Leroi *et al.*, 2012). Kenaikan pH pada proses penyisihan logam berat oleh bakteri karena adanya penumpukan sel bakteri yang menandakan bahwa fase pertumbuhan bakteri mendekati fase stasioner (Gaudy dan Gaudy, 1980).

Pengukuran pH yang lebih akurat dapat dilakukan dengan pH meter. Elektrode dicelupkan pada larutan yang akan diukur pHnya. Harga pH larutan dapat dilihat pada angka yang terdapat di layar alat pengukur pH meter.

c. Suhu

Suhu sangat penting dalam menentukan jumlah dan tingkat pertumbuhan. Peningkatan temperatur mempunyai efek yang umum dalam meningkatkan aktifitas enzim dan aktifitas kimia. Suhu sangat memengaruhi kecepatan pertumbuhan bakteri, kecepatan sintesis enzim dan kecepatan inaktivasi enzim (Knob dan Carmona, 2008). Setiap bakteri mempunyai suhu optimum, maksimum dan minimum untuk pertumbuhannya. Jika suhu lingkungan lebih kecil dari suhu minimum atau lebih besar dari suhu maksimum pertumbuhannya maka aktivitas enzim akan terhenti bahkan pada suhu yang terlalu tinggi akan terjadi denaturasi enzim. Kecepatan pertumbuhan bakteri meningkat lambat dengan naiknya suhu mencapai kecepatan pertumbuhan

maksimum. Di atas suhu maksimum kecepatan pertumbuhan mikrobial menurun dengan cepat dengan naiknya suhu. Pengukuran suhu pada larutan yang akan diukur dapat dilakukan dengan menggunakan termometer.

d. Jumlah Koloni Bakteri

Pengukuran jumlah koloni bakteri pada suatu sampel bertujuan untuk mengetahui jumlah sel hidup bakteri dengan menghitung jumlah koloni bakteri pada sampel tersebut. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah koloni bakteri yaitu metode *Total Plate Count* (TPC) dengan pengenceran. Metode TPC menggunakan anggapan bahwa setiap sel bakteri akan tumbuh berkembang membentuk suatu koloni bakteri. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media menjadi indeks jumlah bakteri yang terkandung dalam sampel.

e. Konsentrasi Total Besi

Pengukuran konsentrasi total besi pada suatu sampel bertujuan untuk mengetahui konsentrasi total besi yang terkandung dalam sampel tersebut. Pengukuran konsentrasi logam besi dilakukan secara bertahap agar diketahui persentase penyisihan logam besi oleh bakteri. Pengukuran konsentrasi total dapat dianalisis dengan *Atomic Absorption Spectrometry* (AAS).

2.7 Model Persamaan Kinetika *Pseudo First Order* dan *Pseudo Second Order*

Laju adsorpsi molekul pada permukaan merupakan parameter esensial untuk menentukan variabel waktu pada sistem dengan kondisi proses yang bervariasi. Gambaran laju biosorpsi dan mekanisme reaksi logam besi pada biomassa sel bakteri menggunakan dua model kinetik. Model pertama berdasarkan asumsi bahwa biosorpsi ion logam pada biomassa merupakan proses *reversible* dan mengikuti reaksi kinetik *pseudo first order* (Susanti dan Nofianto, 2014).

Kinetika *pseudo first order* berdasarkan persamaan Lagergren (1898), diekspresikan pada persamaan 2.1 berikut :

$$\frac{dq}{dt} = k_1 (q_e - q_t) \dots\dots\dots 2.1$$

Dimana q_e merupakan jumlah logam besi yang diadsorp oleh biomassa bakteri saat equilibrium (mg/g), q_t merupakan jumlah logam besi yang diadsorp oleh biomassa bakteri pada waktu t (mg/g), dan k_1 adalah konstanta laju orde pertama (per jam). Persamaan 2.1 diturunkan menjadi persamaan 2.2 berikut :

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1}{2,303} t \dots\dots\dots 2.2$$

dengan memplot $\log(q_e - q_t)$ terhadap t . Kinetika *pseudo-second order kinetic rate model* dievaluasi dengan persamaan Ho *et al* (1999), yang diekspresikan pada persamaan 2.3 dan persamaan 2.4 berikut :

$$\frac{dq}{dt} = k_2 (q_e - q_t)^2 \dots\dots\dots 2.3$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 (q_e)^2} + \frac{1}{q_e} t \dots\dots\dots 2.4$$

dengan $h = k_2 (q_e)^2$ dapat digambarkan sebagai konstanta laju awal pada saat $t = nol$. q_e adalah jumlah ion metal yang disorpsi pada kondisi setimbang (mg/g) ; k_2 adalah konstanta laju *pseudo-second order kinetics* yang diaplikasikan (mg/g.jam), plot t/q_t terhadap t akan memberikan garis linier. Berdasarkan Ho *et al* (1999), jika plot linier, kemudian proses sorpsinya dapat digambarkan sebagai chemisorpsi. Data eksperimen dapat dimasukkan pada persamaan 2.3 atau persamaan 2.4. dan plot t/q_t terhadap t dan hubungan linier diamati. Nilai kapasitas sorpsi pada biomassa, q_e , konstanta laju *pseudo-second order kinetics*, k_2 , konstanta laju sorpsi, h , dan, r^2 , dievaluasi dari plot.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Kerangka Penelitian

Metode penelitian ini dibuat untuk memudahkan penelitian agar berjalan secara sistematis dan terstruktur. Metode penelitian disajikan dalam bentuk kerangka penelitian sebagai gambaran awal tahap penelitian. Kerangka penelitian digunakan sebagai pedoman dalam melakukan penelitian sehingga dapat memudahkan dalam memahami penelitian yang akan dilakukan sehingga kesalahan dapat diminimalisasi.

Penelitian ini akan menguji kemampuan bakteri *Burkholderia pseudomallei* dalam penyisihan terhadap logam besi. Parameter yang akan diuji adalah *Optical Density* (OD), pH, suhu, jumlah besi, dan jumlah koloni bakteri. Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah variasi salinitas dan variasi pH. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan isolat bakteri yang berasal dari area pembongkaran kapal yang tercemar logam besi. Penelitian dilakukan dalam skala laboratorium yang akan dilakukan di Laboratorium Departemen Teknik Lingkungan FTSLK ITS. Berdasarkan uraian di atas maka dapat dilihat kerangka penelitian pada Gambar 3.1.

3.2 Ide Penelitian

Salah satu sumber pencemar logam besi adalah dari kegiatan pembongkaran kapal. Kegiatan pembongkaran kapal mengancam lingkungan laut dan kesehatan manusia dengan potensi melepaskan zat pencemar organik dan inorganik ke lingkungan (Neser *et al.*, 2012). Logam besi atau *ferrum* menjadi logam berat dengan konsentrasi rata-rata paling tinggi dibandingkan dengan logam berat lainnya yang terdapat di area pembongkaran kapal (Siddiquee *et al.*, 2009). Bioremediasi logam berat oleh mikroba adalah proses perubahan molekul atau ion logam sehingga yang semula bersifat toksis menjadi berkurang kadar toksisitasnya (Yazid, 2007). Bioremediasi terbukti sangat efektif dan murah dari sisi ekonomi untuk membersihkan tanah dan air yang terkontaminasi oleh senyawa-senyawa kimia toksik dan beracun. Bioremediasi menggunakan

bakteri lebih *feasible* sebab bakteri dapat melakukan mekanisme degradasi dan transformasi logam berat, salah satu mekanisme tersebut adalah biosorpsi dan bioakumulasi (Vijayaraghavan dan Yun, 2008; Zulaika *et al.*, 2012). Bioremediasi dengan menggunakan bakteri *Burkholderia pseudomallei* memiliki efisiensi tinggi dalam menyisihkan logam besi.



Gambar 3. 1 Kerangka Penelitian

Berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukan pemulihan terhadap lingkungan yang tercemar logam besi dengan melakukan penyisihan logam besi. Penggunaan *Burkholderia pseudomallei* dalam menyisihkan logam besi karena bakteri tersebut memiliki resistensi tinggi terhadap logam besi.

3.3 Studi Literatur

Studi literatur penelitian ini bertujuan untuk mendukung dan membantu ide penelitian serta meningkatkan pemahaman yang lebih jelas terhadap penelitian yang akan diteliti. Sumber literatur berasal dari peraturan, *text book*, jurnal penelitian internasional maupun nasional, makalah seminar, *review journal*, *website*, disertasi dan tugas akhir yang berhubungan dengan penelitian. Literatur yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah logam besi sebagai pencemar, mekanisme penyisihan logam besi oleh bakteri, karakteristik *Burkholderia pseudomallei*, pertumbuhan bakteri, faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri, parameter uji pada penyisihan logam besi oleh bakteri, dan model persamaan kinetika *pseudo first order* dan *pseudo second order*.

3.4 Persiapan Penelitian

Tahap persiapan penelitian dilakukan sebelum melakukan penelitian. Persiapan yang dilakukan meliputi tahapan untuk menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan saat penelitian, *re-growth* bakteri dengan memindahkan bakteri dari media indukan untuk memperbanyak jumlah bakteri serta menjaga agar inokulat bakteri tidak mati selama proses penelitian berlangsung. Tahap persiapan penelitian yang dilakukan sebagai berikut :

1. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB) digunakan sebagai media atau substrat bakteri untuk, uji pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri, uji laju pertumbuhan bakteri dan *re-growth* bakteri pada media cair untuk uji penyisihan logam besi oleh bakteri. Pembuatan media NB untuk 1 liter dibutuhkan 8 gram bubuk NB (Merck, Jerman). Bubuk NB dilarutkan menggunakan aquades dengan cara diaduk untuk melarutkan NB. Setelah itu media NB cair dituangkan kedalam Erlenmeyer (Pyrex, Jerman) sesuai kebutuhan. Media NB digunakan pada tahap persiapan penelitian dan tahap penelitian utama.

2. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA) digunakan sebagai substrat atau media tumbuh bakteri pada uji laju pertumbuhan dan jumlah mikroorganisme. Pembuatan media NA untuk 1 liter dibutuhkan 20 gram bubuk NA (Merck, Jerman). NA bubuk dilarutkan dengan aquades dengan diaduk menggunakan batang pengaduk dan dipanaskan diatas kompor listrik (Maspion S-301, Indonesia). Selanjutnya NA yang telah larut dituangkan ke dalam tabung reaksi (Pyrex, Jerman) dan cawan petri (Cover, USA).

Media di dalam tabung reaksi sebagai media miring dan dibutuhkan sebanyak 10 ml NA setiap tabung reaksi. Kemudian media NA tersebut dimiringkan dengan menggunakan landasan balok kecil hingga media miring tersebut menjadi padat. Setelah itu media NA miring diberi penutup kapas pada bagian mulut tabung agar terhindar dari kontaminan. Media NA digunakan sebagai nutrisi untuk melakukan *re-growth* pada isolat bakteri.

Media di dalam cawan petri sebagai media datar dan dibutuhkan sebanyak 15 ml NA setiap cawan petri. Penambahan media NA cair pada cawan petri dilakukan secara aseptik. Setelah itu media NA datar dibungkus kertas coklat untuk menghindarkan terbentuk uap air pada media datar tersebut.

3. Pembuatan Larutan Fisiologis

Pembuatan larutan fisiologis digunakan sebagai pencuci bakteri dan sebagai media pengencer untuk menganalisis jumlah koloni bakteri menggunakan metode CFU. Larutan fisiologis dibuat dengan melarutkan 8,5 gram NaCl 8,5% (Merck, Jerman) dalam 1000 ml larutan aquadest. Setelah dilarutkan, air fisiologis diaduk hingga homogen. Larutan fisiologis yang homogen kemudian di sterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama ± 60 menit.

4. Pembuatan Larutan Stok Besi

Pembuatan larutan besi dilakukan dengan melarutkan $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ammonium ferro sulfat) bubuk sebanyak 5,245 gram dengan konsentrasi 3.000 mg/L yang dilarutkan dalam 250 ml aquadest. Larutan tersebut digunakan sebagai substrat yang akan disisihkan. Larutan stok besi yang homogen

kemudian di sterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama \pm 60 menit.

5. Sterilisasi Alat Uji dan Media

Alat yang digunakan dalam proses sterilisasi alat uji dan media adalah *autoclave* (ASC, Jerman). Alat yang akan disterilkan dengan menggunakan *autoclave* dibungkus dengan kertas coklat dan direkatkan dengan karet. Pembungkusan tersebut bertujuan untuk menghindari masuknya uap air pada alat yang disterilisasi. Alat yang telah dibungkus kertas coklat dan dimasukkan ke dalam *autoclave*.

Media NA, NB, dan larutan fisiologis yang akan digunakan saat penelitian disterilisasi dengan *autoclave*. Sterilisasi alat uji dan media ini bertujuan untuk membebaskan media dari semua mikroorganisme atau kontaminan yang dapat mengganggu pada proses penelitian selanjutnya. Alat uji dan media yang telah siap kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama \pm 60 menit (Hossain *et al.*, 2012).

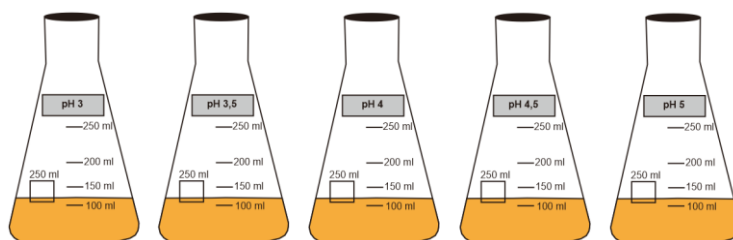
3.5 Peremajaan Isolat Bakteri

Peremajaan isolat bakteri bertujuan untuk menjaga indukan bakteri agar dapat berkembang biak lebih banyak, sehingga memiliki cadangan persediaan bakteri jika terjadi kesalahan dalam penelitian. Jenis bakteri yang digunakan dalam penelitian adalah *Burkholderia pseudomallei*. Bakteri tersebut diinokulasikan dari media NA miring lama ke dalam media NA miring baru yang telah disterilisasi. Proses inokulasi ini dilakukan secara aseptik. Media NA miring yang telah diinokulasikan bakteri disimpan ke dalam inkubator (Memert, Jerman) dengan suhu 37°C agar bakteri tersebut siap untuk digunakan dalam penelitian selanjutnya. Tahapan peremajaan bakteri mengacu pada Machmud (2001) yang telah disesuaikan. Tahapan peremajaan bakteri dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.6 Uji Pengaruh pH pada Kondisi Asam terhadap Pertumbuhan Bakteri

Uji pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui nilai pH optimum terhadap pertumbuhan bakteri pada kondisi asam. pH optimum akan digunakan dalam uji laju pertumbuhan bakteri dan uji penyisihan logam besi oleh

bakteri. Variasi pH yaitu pH 3 ; 3,5 ; 4 ; 4,5 ; dan 5. Bakteri diinokulasikan secara aseptik kedalam masing-masing media NB dengan pH tertentu berdasarkan dengan variasi pH. Pengaturan pH dilakukan dengan menambahkan larutan H_2SO_4 (Merk, Jerman) hingga didapatkan nilai pH yang diinginkan sesuai dengan variasi pH. Bakteri diinokulasi pada media NB sejumlah 2% (Ibrahim *et al.*, 2010). Media NB yang telah diinokulasikan bakteri kemudian di $shaker$ pada 150 rpm selama 48 jam. Parameter yang digunakan yaitu jumlah koloni bakteri. Pengukuran jumlah bakteri dengan metode CFU dan perhitungan jumlah koloni bakteri dengan *Total Plate Counter* (TPC). Pengukuran jumlah koloni bakteri dilakukan pada 24 jam dan 48 jam. Reaktor uji pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.2.

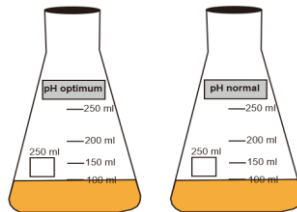


Gambar 3. 2 Reaktor uji pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri

3.7 Uji Laju Pertumbuhan Bakteri

Uji laju pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui lama pertumbuhan bakteri serta memperoleh fase eksponensial yang akan digunakan sebagai penentu waktu pada tahap uji logam besi. Uji laju pertumbuhan bakteri dilakukan pada media NB dengan pH optimum berdasarkan hasil uji pengaruh pH pada kondisi asam terhadap pertumbuhan bakteri dan pH normal. Uji pertumbuhan bakteri ini dengan melakukan pengocokan selama 96 jam. Selama uji pertumbuhan bakteri dilakukan pengamatan *Optical Density* (OD). Pengambilan sampel analisis pengamatan dilakukan 1 jam sekali selama 6 jam kemudian dilanjutkan pada 24 , 48, 72, dan 96 jam dengan panjang gelombang 600 nm. Tahapan uji pertumbuhan mengacu pada Deepali (2011) yang telah disesuaikan. Tahapan uji laju pertumbuhan bakteri dapat

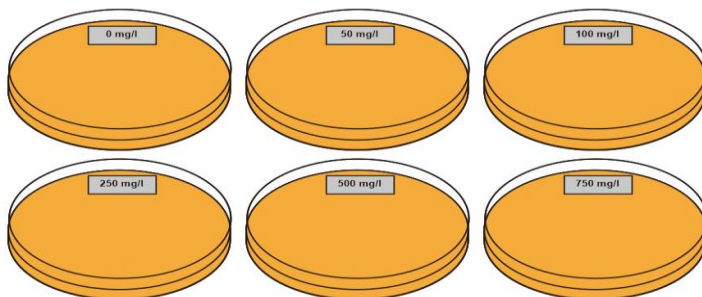
dilihat pada Lampiran 2. Reaktor uji laju pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3. 3 Reaktor uji laju pertumbuhan bakteri

3.8 Uji *Minimum Inhibitory Concentration* dengan Metode *Screening*

Aktifitas mikroorganisme terhadap logam besi dapat dilihat dengan menentukan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). MIC merupakan konsentrasi minimum inhibitor yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *screening* dengan menggunakan NA sebagai media pada cawan petri. Konsentrasi besi yang digunakan untuk menentukan MIC adalah 0, 50, 100, 250, 500, dan 750 mg/L. Reaktor uji MIC dengan metode *screening* dapat dilihat pada Gambar 3.4.



Gambar 3. 4 Reaktor uji MIC dengan metode *screening*

Pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri dengan selang waktu 24 jam setelah inokulasi. Pertumbuhan bakteri pada media yang mengandung logam besi dibandingkan dengan media kontrol. Nilai MIC dilakukan dengan pengamatan visual maupun dengan perhitungan jumlah koloni yang terbentuk pada cawan petri. Cawan dengan konsentrasi besi tertentu yang tidak menunjukkan terjadinya pertumbuhan bakteri selama waktu uji merupakan cawan dengan konsentrasi minimum yang menghambat pertumbuhan bakteri uji. Setelah diperoleh nilai MIC, dipilih satu konsentrasi tertentu dibawah nilai MIC sebagai konsentrasi yang digunakan pada tahap uji penyisihan logam besi oleh bakteri.

3.9 Uji Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri dan Uji Parameter

Uji penyisihan logam besi oleh bakteri untuk menentukan persentase penyisihan bakteri terhadap paparan logam besi yang diberikan dan menentukan komposisi bakteri terhadap persen penyisihan logam besi. Uji penyisihan logam besi oleh bakteri ini merupakan tahap penelitian utama dalam penelitian ini.

Pada tahap ini, parameter yang akan dianalisis adalah OD, pH, suhu, jumlah koloni bakteri dan konsentrasi total besi. Parameter OD, pH, suhu dan konsentrasi total besi akan dianalisis pada hari ke-0, ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-4 selama 4 hari. Sedangkan parameter jumlah koloni bakteri dianalisis pada hari ke-0, ke-3, dan ke-4. Hal ini dilakukan agar mendapatkan data untuk menunjang grafik yang dihasilkan sehingga dapat dilihat kecenderungan proses penyisihan.

Pada penelitian ini konsentrasi besi yang digunakan sebanyak satu konsentrasi yaitu yang berdasarkan hasil uji MIC. Variabel yang digunakan pada penelitian ini yaitu variasi salinitas dan pH pada media. Untuk variasi salinitas yang digunakan yaitu pada salinitas 15 ppt dan 20 ppt. Sedangkan variasi pH pada media yang digunakan yaitu pH normal dan pH optimum berdasarkan hasil uji pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri. Variabel penelitian yang digunakan adalah variasi salinitas dan variasi pH yang dapat dilihat pada Tabel 3.1. Reaktor uji penyisihan logam besi oleh bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.5.

Tabel 3. 1 Variabel Perlakuan antara Konsentrasi Logam Besi dengan pH media

Salinitas media	pH media	
	pH normal	pH optimum
Kontrol	K1	K2
S1	S1P1	S1P2
S2	S2P1	S2P2

Keterangan :

K1 = Media ditambahkan logam besi tanpa adanya bakteri

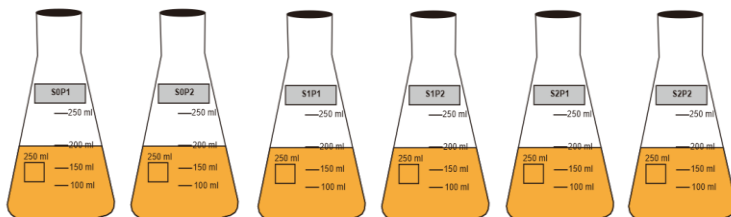
K2 = Media ditambahkan bakteri tanpa adanya logam besi

C1 = Salinitas pada media sebesar 15 ppt

C2 = Salinitas pada media sebesar 20 ppt

P1 = Media dengan kondisi pH normal (pH = 7)

P2 = Media dengan kondisi pH optimum berdasarkan uji pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri



Gambar 3. 5 Reaktor uji penyisihan logam besi oleh bakteri

Berdasarkan Tabel 3.2 maka kebutuhan reaktor pada penelitian ini sebanyak 6 reaktor. Reaktor yang digunakan adalah erlenmayer 250 ml (Pyrex, Jerman). Volume tersebut dipilih karena disesuaikan dengan kebutuhan volume larutan yang dibutuhkan 200 ml dalam setiap reaktor. Media yang digunakan untuk uji penyisihan logam besi adalah larutan *Salt*

Base Solution (SBS) ((NH₄)₂SO₄ 0,4 gram, KH₂PO₄ 0,4 gram, MgSO₄ 0,8 gram, dan ekstrak ragi 0,1 gram dalam 1 liter air) (Irawati *et al.* 2017).

1. Inokulasi Bakteri Pada Media yang Mengandung Logam Besi

Pada penelitian ini larutan besi yang digunakan yaitu larutan stock (NH₄)₂Fe(SO₄)₂ (ammonium ferro sulfat) (Merck, Jerman). Larutan ammonium ferro sulfat tersebut dimasukan kedalam erlenmayer 250 ml (Pyrex, Jerman). Bakteri yang telah diinokulasi ditambahkan kedalam larutan ammonium ferro sulfat sesuai komposisi yang telah ditentukan. Tahapan inokulasi bakteri pada media yang mengandung logam besi dapat dilihat pada Lampiran 3.

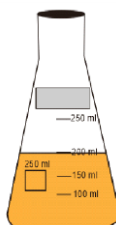
2. Uji Parameter

Parameter yang diuji dalam penelitian ini pengukuran dilakukan selama 4 hari. Untuk parameter *Optical Density* (OD), pH, suhu dan konsentrasi total besi pengukuran dilakukan pada hari ke-0, ke-1, ke-2, ke-3, dan ke-4. Sedangkan untuk pengukuran parameter jumlah koloni bakteri dilakukan pada hari ke-0, ke-3, dan ke-4. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Pengukuran pH dilakukan dengan pH meter (Cyberscan 510, USA) di Laboratorium Pemulihan Air, Departemen Teknik Lingkungan ITS.
- b. Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer (EC 10 PhonLab, USA) di Laboratorium Manajemen Kualitas Lingkungan, Departemen Teknik Lingkungan ITS.
- c. Pengukuran nilai *Optical Density* (OD) dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer (Genesys 20, USA) di Laboratorium Pemulihan Air, Departemen Teknik Lingkungan ITS.
- d. Pengukuran konsentrasi total dapat dianalisis dengan *Atomic Absorption Spectrometry* (AAS) (Reyleigh WFX 210, Beijing) di Laboratorium Teknik Kimia ITS.
- e. Pengukuran jumlah koloni bakteri menggunakan metode CFU.

3.10 Perhitungan Laju Kinetika Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri

Sebelum dilakukan perhitungan laju kinetika, dilakukan pengukuran konsentrasi biomassa sel bakteri. Tujuannya untuk mendapatkan grafik hubungan antara *optical density*, berat kering bakteri dan jumlah koloni bakteri dalam kurun waktu tertentu. Media yang digunakan adalah media NB. Parameter yang digunakan dalam pengukuran konsentrasi biomassa sel bakteri adalah *optical density*, berat kering bakteri dan jumlah koloni bakteri. Pengukuran parameter tersebut dilakukan pada jam ke-0, jam ke-5, jam ke-20, jam ke-24, dan jam ke-72. Hasil dari pengukuran terhadap parameter tersebut akan diplotkan kedalam bentuk grafik. Tahapan uji laju pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Lampiran 4. Reaktor uji pengukuran konsentrasi biomassa sel bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.6.



Gambar 3. 6 Reaktor uji pengukuran konsentrasi biomassa sel bakteri

Untuk menentukan berat kering bakteri (mg/mL) dilakukan interpolasi berdasarkan grafik konsentrasi biomassa sel bakteri terhadap hasil pengukuran *optical density* dan jumlah koloni bakteri (log CFU) pada uji penyisihan logam besi oleh bakteri. Berat kering bakteri (mg/mL) akan digunakan untuk menghitung laju kinetika menggunakan model persamaan kinetika *pseudo first order* dan *pseudo second order*. Kinetika *pseudo first order* berdasarkan persamaan Lagergren (1898), diekspresikan pada persamaan 3.1 berikut :

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1}{2.303} t \dots\dots\dots 3.1$$

Dimana q_e merupakan jumlah logam besi yang diadsorp oleh biomassa bakteri saat equilibrium (mg/g). Sedangkan q_t merupakan jumlah logam besi yang diadsorp oleh biomassa bakteri pada waktu t (mg/g). k_1 adalah konstanta laju orde pertama (per jam) dan k_2 adalah konstanta laju orde kedua (mg/g.jam).

Sedangkan kinetika *pseudo-second order kinetic rate model* dievaluasi dengan persamaan Ho *et al* (1999), yang diekspresikan pada persamaan 3.2 berikut :

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 (q_e)^2} + \frac{1}{q_e} t \dots \dots \dots 3.2$$

dengan $h = k_2 (q_e)^2$ dapat digambarkan sebagai konstanta laju awal pada saat $t = nol$. q_t adalah jumlah ion metal yang disorpsi pada kondisi setimbang (mg/g) ; k_2 adalah konstanta laju *pseudo-second order kinetics* yang diaplikasikan (mg/g.jam), plot t/q_t terhadap t akan memberikan garis linier. Berdasarkan Ho *et al* (1999), jika plot linier, kemudian proses sorpsinya dapat digambarkan sebagai chemisorpsi. Data eksperimen dapat dimasukkan pada persamaan 3.1 dan persamaan 3.2. Plot t/q_t terhadap t dan hubungan linier diamati. Nilai kapasitas sorpsi pada biomassa, q_e , konstanta laju *pseudo-second order kinetics*, k_2 , konstanta laju sorpsi, h , dan, r^2 , dievaluasi dari plot.

3.11 Hasil dan Pembahasan

Pada bagian hasil dan pembahasan akan ditulis secara deskriptif untuk menjelaskan penelitian akibat pengaruh parameter dan variabel yang telah ditentukan sebelumnya. Dalam hasil penelitian meliputi beberapa hal berikut :

1. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri.
2. Pembuatan grafik hubungan antara nilai OD dengan waktu hidup bakteri sehingga dapat menentukan kurva laju pertumbuhan bakteri.
3. Pengaruh variasi konsentrasi logam besi terhadap MIC yang dilakukan oleh bakteri.

4. Pengaruh variasi salinitas dan variasi pH terhadap efisiensi penyisihan logam besi.
5. Analisis OD, pH, suhu, dan konsentrasi logam besi serta jumlah koloni bakteri pada proses penyisihan logam besi.
6. Menentukan jumlah bakteri dengan metode CFU dan perhitungan jumlah koloni bakteri dengan *Total Plate Counter* (TPC).
7. Analisis penyisihan logam besi oleh bakteri.
8. Menentukan kecepatan kinetik penyisihan logam besi oleh bakteri.

3.12 Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan disusun berdasarkan hasil analisis data penelitian dan pembahasan. Kesimpulan harus menjawab rumusan masalah dan sesuai dengan tujuan penelitian. Kesimpulan yang dibuat akan memuat hasil uji MIC , persentase penyisihan logam besi , dan kecepatan kinetik penyisihan logam besi oleh bakteri *Burkholderia Pseudomallei* terhadap logam besi. Saran diperlukan sebagai penyempurnaan penelitian dan rekomendasi terhadap penelitian terkait untuk meminimalisasi kesalahan dan untuk meningkatkan efisiensi.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

4.1.1 Uji Pengaruh pH pada Kondisi Asam terhadap Pertumbuhan Bakteri *Burkholderia pseudomallei*

Uji pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri *Burkholderia pseudomallei* untuk mengetahui pH optimum pertumbuhan bakteri pada kondisi asam. pH optimum pada kondisi asam akan digunakan pada uji laju pertumbuhan bakteri dan uji penyisihan logam besi oleh bakteri. Proses pertumbuhan bakteri dan penyisihan logam berat oleh bakteri akan optimal pada pH optimum (Leroi *et al.*, 2012). Variasi pH yang digunakan yaitu pH 3 ; 3,5 ; 4 ; 4,5 ; dan 5. Variasi pH disesuaikan dengan kelarutan ion *ferro* (Fe^{2+}) yang dapat larut secara sempurna pada pH rendah (Alaerts dan Sumestri, 1987). Parameter yang digunakan yaitu jumlah koloni bakteri. Pengukuran jumlah bakteri dengan metode CFU dan perhitungan jumlah koloni bakteri dengan *Total Plate Counter* (TPC). Jumlah koloni bakteri diencerkan hingga 10^5 , 10^6 , dan 10^7 . Pengukuran jumlah koloni bakteri dilakukan pada 24 jam dan 48 jam. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri pada 24 jam dan 48 jam dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Jumlah Koloni Bakteri pada media dengan berbagai variasi pH

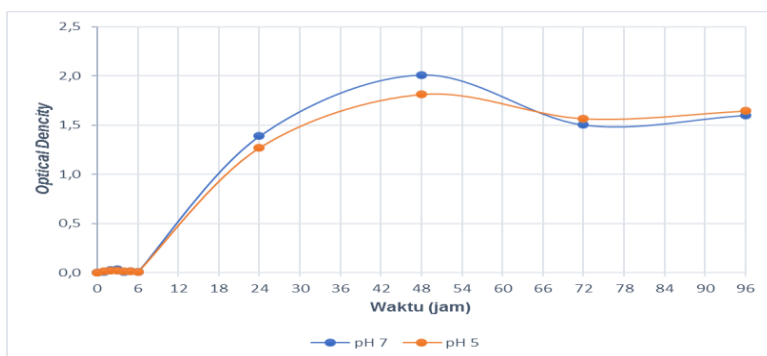
pH	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)	
	24 Jam	48 Jam
5	$>250 \times 10^6$	$>250 \times 10^7$
4,5	70×10^6	$>250 \times 10^6$
4	10×10^6	103×10^6
3,5	-	6×10^6
3	-	4×10^6

Berdasarkan Tabel 4.1 pH optimum pada kondisi asam pertumbuhan bakteri terjadi pada kondisi pH 5 dengan jumlah koloni bakteri pada pengamatan 24 jam lebih besar dari 250×10^6

CFU/mL dan 48 jam lebih besar dari 250×10^7 CFU/mL. Tong *et al.* (1996) menyatakan bahwa bakteri *Burkholderia pseudomallei* memiliki pH optimum pada kisaran 5 – 8. Bakteri tumbuh dengan baik pada pH 4,5. Sedangkan pada pH 4 ; 3,5 ; dan 3 pada pengamatan 24 jam tidak beradaptasi bakteri yang tumbuh pada media. Pada pH 4 ; 3,5 ; dan 3 bakteri mulai tumbuh pada pengamatan 48 jam. Pada pH kurang dari 5, proses pertumbuhan bakteri akan sangat lambat (Sarhini, 2012).

4.1.2 Uji Laju Pertumbuhan Bakteri *Burkholderia pseudomallei*

Uji laju pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui fase-fase pertumbuhan bakteri melalui kurva pertumbuhan bakteri. Terdapat fase lag, eksponensial, stasioner, dan kematian dalam kurva pertumbuhan bakteri. Fase eksponensial bakteri akan digunakan pada penelitian utama pada saat inokulasi bakteri kedalam reaktor uji. Uji laju pertumbuhan bakteri dilakukan pada kondisi pH 7 dan pH optimum bakteri pada kondisi asam. Hasil uji pH terhadap pertumbuhan bakteri menunjukan pada pH 5 merupakan pH optimum bakteri *Burkholderia pseudomallei* pada kondisi asam. Hasil pengukuran laju pertumbuhan bakteri *Burkholderia pseudomallei* dengan parameter *Optical Density* (OD) dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Kurva Laju Pertumbuhan Bakteri *Burkholderia pseudomallei*

Pada Gambar 4.1 dapat dilihat bahwa pada kondisi pH 7 dan pH 5 bakteri *Burkholderia pseudomallei* cenderung memiliki laju pertumbuhan yang sama. Fase lag bakteri *Burkholderia pseudomallei* yaitu pada jam ke-0 hingga ke-6, kemudian pada jam ke-6 hingga ke-48 jam merupakan fase eksponensial dari bakteri *Burkholderia pseudomallei*. Fase eksponensial ditandai dengan kenaikan nilai *Optical density* yang tinggi dari jam ke-6 hingga jam ke-48. Sehingga setengah dari fase eksponensial akan digunakan pada penelitian utama pada saat inokulasi bakteri kedalam reaktor uji. Astuti (2010) menyatakan bahwa pada fase eksponensial terjadi pertumbuhan secara seimbang oleh bakteri, sel bakteri membelah dengan kecepatan yang tetap dan maksimal. Pertumbuhan yang paling cepat terjadi pada fase eksponensial.

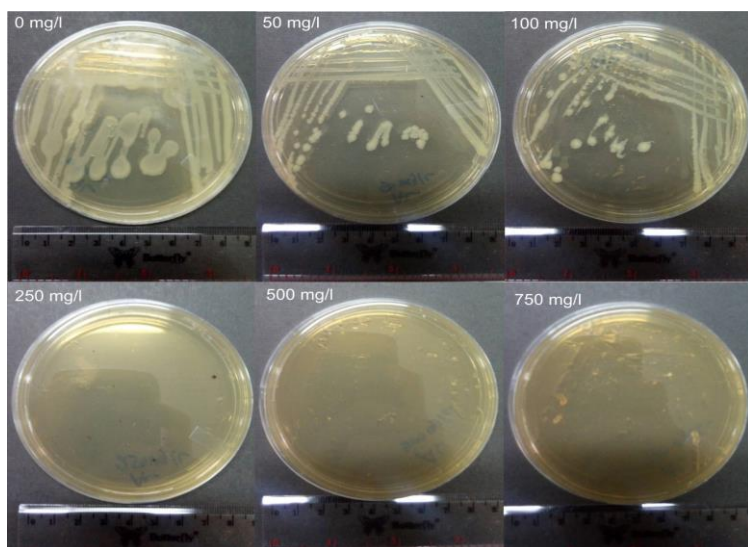
Fase stasioner terjadi pada jam ke-48 hingga akhir waktu uji. Hal ini ditunjukkan dari penambahan nilai *optical density* yang relatif kecil. Astuti (2010) juga menyatakan bahwa fase stasioner ditandai dengan penurunan kecepatan pertumbuhan (pembelahan bakteri berkurang), dapat dikarenakan kekurangan nutrisi pada lingkungan tumbuh bakteri. Hal ini sesuai dengan penelitian Rolfe *et al* (2012) yang menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri mulai memasuki fase stasioner pada jam ke-48 pada suhu 25 °C. Pada fase stasioner, pertumbuhan sel yang hidup masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati. Pada kondisi pH 7 dan pH 5 bakteri *Burkholderia pseudomallei* cenderung memiliki laju pertumbuhan yang sama pada masing-masing fase.

Pada Gambar 4.1 tidak terdapat fase kematian bakteri karena nilai *optical density* cenderung mengalami kenaikan. Menurut Dwipayana dan Aresyady (2010) menyatakan metode uji pertumbuhan bakteri dengan pengukuran nilai *optical density* merupakan salah satu metode tidak langsung dalam penentuan fase pertumbuhan bakteri. Metode ini tidak dapat membedakan bakteri yang hidup dan bakteri yang mati.

4.1.3 Uji *Minimum Inhibitory Concentration* dengan Metode *Screening*

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) merupakan konsentrasi minimum suatu zat yang dapat menghambat

pertumbuhan bakteri. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *screening*. Tujuan dilakukan uji MIC adalah untuk menentukan penambahan konsentrasi logam besi pada tahap uji penyisihan logam besi oleh bakteri. Adapun hasil uji MIC dan inkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4. 2 Uji MIC Bakteri *Burkholderia pseudomallei* dengan Metode Screening

Pada Gambar 4.2 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi logam besi yang ditambahkan maka semakin sedikit bakteri yang tumbuh pada media tersebut. Pada media yang tidak mengandung logam besi menunjukkan pertumbuhan bakteri yang sangat baik. Pada konsentrasi 50 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ juga menunjukkan pertumbuhan bakteri yang sangat baik. Pada konsentrasi konsentrasi 100 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ juga menunjukkan pertumbuhan bakteri yang baik. Hal ini menunjukkan bakteri *Burkholderia pseudomallei* memiliki tingkat toleransi yang tinggi pada konsentrasi logam besi tersebut.

Pada konsentrasi 250 mg/L, 500 mg/L dan 750 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tidak menunjukkan adanya pertumbuhan

bakteri *Burkholderia pseudomallei*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Burkholderia pseudomallei* mulai terhambat pertumbuhannya dengan meningkatnya konsentrasi logam besi yang dipaparkan.

Hasil dari pengamatan pada media uji dilakukan skoring terhadap hasil yang diperoleh. Skoring penentuan MIC berdasarkan luasan permukaan pertumbuhan bakteri dan perubahan warna yang kemudian dibandingkan dengan pertumbuhan bakteri control. Kriteria utama dalam skoring adalah luasan permukaan pertumbuhan bakteri. Hal ini dikarenakan persebaran bakteri pada media menandakan bakteri tersebut masih dapat bertahan hidup dengan baik. Kriteria skoring yang digunakan adalah sebagai berikut:

- +++++ = Luas tumbuh bakteri dibandingkan dengan kontrol adalah 81%-100% dan/atau tidak terjadi perubahan warna
- ++++ = Luas tumbuh bakteri dibandingkan dengan kontrol adalah 61%-80% dan/atau tidak terjadi perubahan warna
- +++ = Luas tumbuh bakteri dibandingkan dengan kontrol adalah 41%-60% dan/atau tidak terjadi perubahan warna
- ++ = Luas tumbuh bakteri dibandingkan dengan kontrol adalah 21%-40% dan/atau tidak terjadi perubahan warna
- + = Luas tumbuh bakteri dibandingkan dengan kontrol adalah $\leq 20\%$ dan/atau tidak terjadi perubahan warna
- = Tidak ada pertumbuhan bakteri

Luas permukaan pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada lampiran 4 dan hasil skoring penentuan MIC dapat dilihat pada Table 4.2

Tabel 4. 2 Skoring Pertumbuhan bakteri pada Uji MIC

Bakteri	Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (mg/l)					
	0	50	100	250	500	750
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	+++++	+++++	++++	-	-	-

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat ditentukan nilai MIC untuk bakteri *Burkholderia pseudomallei* adalah antara 100 - 250 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terendah bakteri *Burkholderia pseudomallei* tidak dapat tumbuh. Berdasarkan penelitian Muthuraman *et al* (2013) bakteri sejenis yang memiliki nilai MIC terhadap logam besi sebesar 250 mg/L adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*. Sedangkan menurut penelitian Alnaimat *et al* (2017) beberapa bakteri memiliki tingkat toleransi yang tinggi terhadap logam besi dengan nilai MIC antara 550 – 600 mg/L. Nilai MIC digunakan untuk menentukan konsentrsai yang akan digunakan dalam tahap uji penyisihan logam besi oleh bakteri. Konsentrasi yang dipilih untuk tahap uji penyisihan logam besi oleh bakteri merupakan kadar dibawah nilai MIC.

Berdasarkan uji MIC ditentukan bahwa konsentrsai logam besi yang digunakan pada tahap uji penyisihan logam besi oleh bakteri adalah 100 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Untuk memastikan bahwa konsentrasi 100 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tidak menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan membandingkan nilai *optical density* dari konsentrasi tersebut dengan nilai *optical density* reaktor kontrol yang diinokulasi bakteri tanpa penambahan logam besi. Nilai *optical density* konsentrasi 100 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ setelah dikali dua harus lebih besar dari nilai *optical density* kontrol. Apabila setelah dilakukan pengalihan dan nilai *optical density* lebih kecil dari kontrol maka bakteri tersebut sudah mulai terhambat pertumbuhannya.

4.2 Penelitian Utama

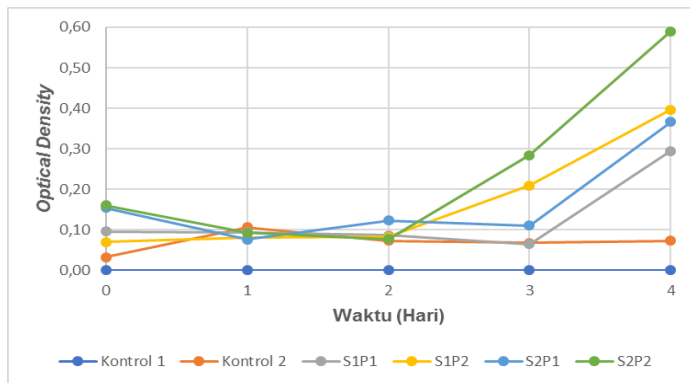
4.2.1 Uji Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri dan Uji Parameter

Tahap uji penyisihan logam besi oleh bakteri merupakan tahap utama pada penelitian ini. Uji penyisihan logam besi oleh bakteri dilakukan selama 4 hari dengan pengukuran beberapa parameter yaitu *Optical Density* (OD), suhu, pH, total koloni bakteri dan konsentrasi total logam besi. Setengah waktu

eksponensial bakteri yang digunakan pada uji penyisihan logam besi oleh bakteri yaitu 24 jam.

Pengukuran nilai parameter OD, suhu, pH, dan konsentrasi total logam besi dilakukan pada hari ke-0, ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-4. Untuk analisis parameter total koloni bakteri dilakukan pada hari ke-0, ke-3, dan ke-4. Tujuannya adalah untuk mengetahui persentasi penyisihan logam besi dan kecepatan kinetika penyisihan logam besi yang dilakukan oleh aktifitas bakteri *Burkholderia pseudomallei*.

4.2.1.1 Analisis Parameter *Optical Density*



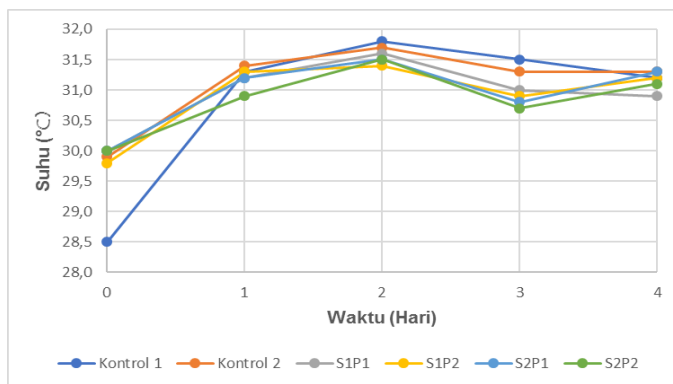
Gambar 4. 3 OD Uji Penyisihan logam Besi oleh Bakteri *Burkholderia pseudomallei*

Berdasarkan Gambar 4.3 diketahui bahwa nilai *optical density* pada reaktor kontrol 2 tidak mengalami perubahan yang signifikan hingga akhir waktu uji. Sedangkan pada reaktor S1P1 dan S2P1 nilai *optical density* mengalami kenaikan yang signifikan dari hari ke-3 hingga akhir waktu uji. Pada reaktor S1P2 dan S2P2 nilai *optical density* mengalami kenaikan yang signifikan dari hari ke-2 hingga akhir waktu uji. Ini menunjukkan bahwa pada reaktor uji dengan kondisi pH optimum (pH 5) fase eksponensial bakteri terjadi lebih awal dibandingkan dengan reaktor uji dengan kondisi pH normal (pH 7). Bakteri membutuhkan kondisi pH optimum untuk tumbuh secara optimal

(Suriani *et al.*, 2013). Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri berkaitan dengan aktifitas enzim. Beberapa bakteri membutuhkan enzim untuk mengkatalis beberapa reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Kinerja enzim-enzim tersebut akan terganggu apabila pH pada suatu medium atau lingkungan tidak optimal yang menyebabkan terganggunya pertumbuhan bakteri itu sendiri (Pelczar dan Chan, 1986; Suriani *et al.*, 2013). Dwipayana dan Aresyady (2010) menyatakan metode uji pertumbuhan bakteri dengan pengukuran nilai *optical density* merupakan salah satu metode tidak langsung yang tidak dapat membedakan bakteri yang hidup dan bakteri yang mati, sehingga nilai OD akan cenderung naik selama waktu pengujian berlangsung.

4.2.1.2 Analisis Parameter Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses penyisihan logam berat oleh bakteri (Sarhini, 2012). Proses metabolisme bakteri dapat berkerja dengan baik pada suhu optimum sehingga penyisihan logam berat dapat dilakukan secara optimal (Leroi *et al.*, 2012). Bakteri *Burkholderia pseudomallei* merupakan bakteri mesofilik yang dapat hidup dengan baik pada rentang suhu 24 – 32 °C (Tong *et al.*, 1996).

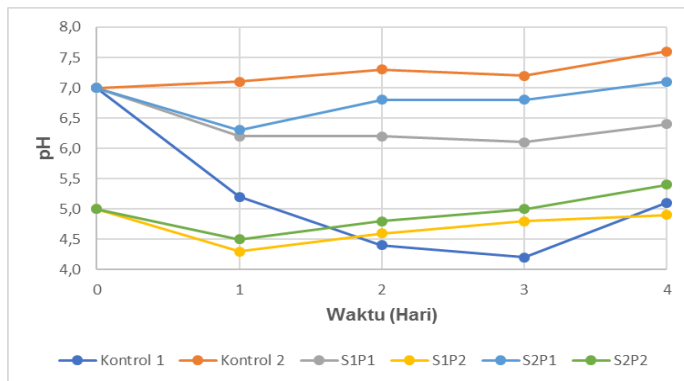


Gambar 4. 4 Suhu Uji Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri oleh Bakteri *Burkholderia pseudomallei*

Berdasarkan Gambar 4.4 menunjukkan suhu yang terukur pada reaktor uji berkisar antara 29,8 – 31,6 °C. Sedangkan suhu yang terukur pada reaktor kontrol berkisar antara 28,5 - 31,8 °C. Rentang suhu yang terukur pada reaktor uji termasuk dalam rentang suhu optimum pertumbuhan bakteri *Burkholderia pseudomallei*. Chen *et al.* (2003) menyatakan bahwa bakteri *Burkholderia pseudomallei* masih dapat tumbuh pada suhu 4 °C.

4.2.1.3 Analisis Parameter pH

Faktor lain yang juga mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah pH. pH merupakan variabel yang digunakan pada uji penyisihan logam besi oleh bakteri. Varias pH yang digunakan pada reaktor uji adalah pada pH 7 dan pH 5. Menurut Sarbini (2012) pH mempengaruhi kemampuan mikroorganisme untuk mengadakan traspor membran sel. pH juga berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri berkaitan dengan aktifitas enzim (Suriani *et al.*, 2013). Proses penyisihan logam berat akan optimal pada pH optimum (Leroi *et al.*, 2012).



Gambar 4. 5 pH Uji Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri *Burkholderia pseudomallei*

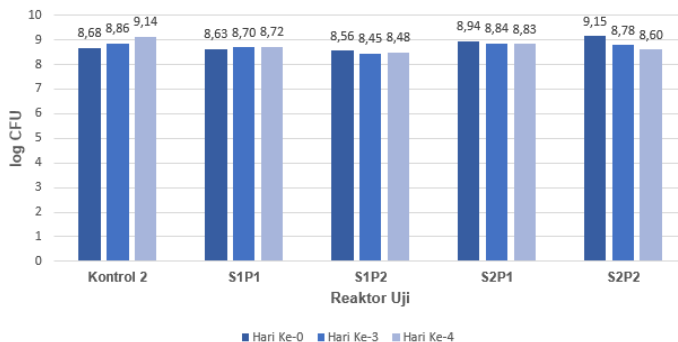
Berdasarkan Gambar 4.5 nilai pH pada reaktor Kontrol 1 berkisar antara 4,2 – 7,0. Sedangkan nilai pH pada reaktor Kontrol 2 berkisar antara 7,0 - 7,6. Pada reaktor dengan kondisi pH awal 7 (reaktor S1P1 dan S2P1), pH berkisar antara antara

6,1 - 7,1. Sedangkan pada reaktor dengan kondisi pH awal 5 (reaktor S1P2 dan S2P2) pH berkisar antara 4,3 – 5,4. pH untuk reaktor kontrol adalah antara 4,2 – 7,6. Tong *et al* (1996) menyatakan bahwa bakteri *Burkholderia pseudomallei* memiliki pH optimum pada kisaran 5 – 8. Rentang pH yang terukur pada kondisi pH awal 7 (reaktor S1P1 dan S2P1), termasuk dalam rentang pH optimum pertumbuhan bakteri *Burkholderia pseudomallei*. Bakteri membutuhkan kondisi pH optimum untuk tumbuh secara optimal (Suriani *et al.*, 2013). Sedangkan rentang pH yang terukur pada kondisi pH awal 5 (reaktor S1P2 dan S2P2) kondisi tidak termasuk dalam rentang pH optimum pertumbuhan bakteri *Burkholderia pseudomallei*. Pertumbuhan bakteri yang tidak optimal akan mempengaruhi dalam proses penyisihan logam besi.

Gambar 4.5 juga menunjukan bahwa pH pada reaktor uji dengan variasi pH dan salinitas cenderung basa. Kenaikan pH pada reaktor uji dengan variasi pH dan salinitas disebabkan oleh adanya penumpukan sel bakteri yang menandakan bahwa fase pertumbuhan bakteri mendekati fase stasioner (Gaudy dan Gaudy, 1980).

4.2.1.4 Analisis Parameter Jumlah Koloni Bakteri

Parameter jumlah koloni bakteri digunakan untuk mengetahui jumlah bakteri yang hidup pada reaktor uji. Metode yang digunakan untuk menentukan jumlah koloni bakteri adalah metode CFU (*Colony Forming Unit*). Jumlah koloni bakteri dilakukan pengenceran hingga 10^8 . Hal ini dikarenakan agar jumlah koloni yang terbentuk bias terhitung sesuai dengan rentang yang ditentukan yaitu 30 – 300 koloni. Parameter jumlah koloni bakteri dianalisis pada hari ke-0, ke-3 dan ke-4. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri setelah 24 jam dengan pengenceran 10^8 dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4. 6 Jumlah Koloni Bakteri

Berdasarkan Gambar 4.6 diketahui bahwa pertumbuhan bakteri pada Kontrol 2 mengalami peningkatan yang signifikan. Koloni bakteri pada Kontrol 2 pada hari ke-0 sebesar 48×10^7 CFU/mL dan terus meningkat hingga hari ke-4 sebesar 138×10^7 CFU/mL. Hal ini disebabkan tidak terdapatnya logam besi sebagai inhibitor dan bakteri hidup pada pH 7 (pH optimum) pada reaktor Kontrol 2 menyebabkan pertumbuhan yang signifikan terhadap bakteri. Pada reaktor uji S1P1 juga terjadi peningkatan jumlah koloni bakteri dari hari ke-0 hingga hari ke-4 waktu uji walaupun tidak signifikan. Hal ini disebabkan bakteri hidup pada kondisi pH optimum yang menyebabkan bakteri tumbuh dengan baik. Sedangkan pada reaktor uji S1P2 terjadi penurunan jumlah koloni bakteri dari hari ke-0 menuju hari ke-3 kemudian jumlah koloni naik pada hari-4 waktu uji. Pada reaktor uji S2P1 dan S2P2 terjadi penurunan jumlah koloni dari hari-0 hingga hari-4 waktu uji. Penurunan jumlah koloni dapat disebabkan proses adaptasi oleh bakteri *Burkholderia pseudomallei* terhadap logam besi, kondisi pH dan salinitas pada reaktor. Jumlah koloni naik kembali menunjukkan bahwa bakteri *Burkholderia pseudomallei* berhasil menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan dalam reaktor uji. Penurunan jumlah koloni bakteri juga dapat disebabkan oleh kondisi lingkungan yang kurang mendukung yang menyebabkan terjadinya inaktivasi bakteri.

4.2.1.5 Analisis Parameter Total Logam Besi

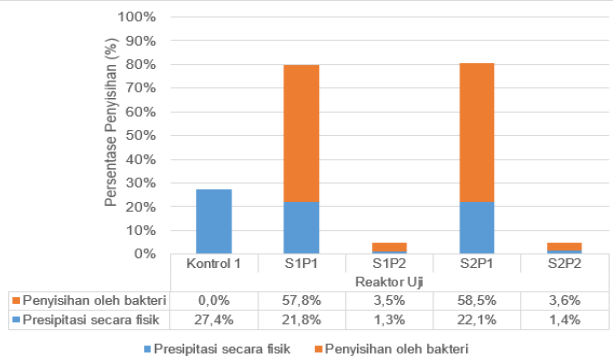
Parameter total logam besi pada reaktor uji Kontrol 1 dan Kontrol 2 diukur pada awal dan akhir waktu uji. Tujuannya adalah untuk memastikan bahwa pada reaktor uji Kontrol 1 (dengan penambahan logam besi dan tanpa bakteri) kadar logam besi tidak mengalami perubahan secara signifikan dan pada reaktor uji Kontrol 2 (dengan penambahan bakteri dan tanpa logam besi) tidak terdapat kadar logam besi. Sedangkan untuk reaktor uji kode S1P1, S1P2, S2P1 dan S2P2 total logam besi diukur pada hari ke-0, ke-1, ke-2, ke-3, dan ke-4. Tujuannya adalah untuk mengetahui persentase penyisihan logam besi oleh bakteri yang terdapat dalam reaktor uji dan untuk menentukan kecepatan kinetika penyisihan logam besi oleh bakteri. Hasil pengukuran total besi dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Kadar Total Besi dengan metode AAS

Hari ke-	Konsentrasi Logam Besi (mg/L)					
	Kontrol 1	Kontrol 2	S1P1	S1P2	S2P1	S2P2
0	15,83	0,00	15,83	17,50	15,83	16,66
1	-	-	14,16	16,66	3,08	15,83
2	-	-	6,55	16,66	4,48	17,50
3	-	-	6,87	17,50	5,45	19,16
4	11,49	0,00	3,22	17,50	5,04	17,50

Berdasarkan Tabel 4.3, diketahui bahwa pada reaktor uji Kontrol 1 (dengan logam besi tanpa penambahan bakteri) terjadi penurunan konsentrasi logam besi. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi proses presipitasi secara fisik oleh logam besi. Pada reaktor Kontrol 2 (dengan penambahan bakteri tanpa logam besi) sebagai kontrol yang menunjukkan bahwa pada awal dan akhir waktu uji pada media yang digunakan tidak terdapat logam besi pada reaktor tersebut. Sedangkan pada reaktor uji yang mengandung logam besi dan bakteri *Burkholderia pseudomallei* mengalami penurunan konsentrasi. Penurunan konsentrasi terjadi pada reaktor uji S1P1, S1P2, S2P1 dan S2P2. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi proses penyisihan logam besi oleh

bakteri dan juga dimungkinkan terjadinya proses presipitasi secara fisik pada reaktor uji tersebut.



Gambar 4. 7 Persentase Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri *Burkholderia pseudomallei*

Berdasarkan Gambar 4.7 diketahui persentasi penyisihan logam besi pada reaktor uji Kontrol 1 hanya terjadi proses presipitasi logam besi secara fisik sebesar 27,4 %. Proses presipitasi logam besi secara fisik dapat terjadi dikarenakan nilai pH yang tidak stabil dan berubah-ubah setiap waktunya pada larutan. Pada Gambar 4.5 dapat dilihat bahwa pada reaktor Kontrol 1 nilai pH yang tidak stabil dan berubah-ubah setiap waktunya pada larutan (pH berkisar antara 4,2 – 7,0). Berdasarkan pada reaktor Kontrol 1, pada reaktor uji lainnya (kode S1P1, S1P2, S2P1 dan S2P2) juga dimungkinkan terjadi proses presipitasi logam besi secara fisik sebesar 27,4% dari total penyisihan logam besi dan sisannya sebesar 72,6% merupakan penyisihan logam besi oleh bakteri *Burkholderia pseudomallei*.

Berdasarkan pada Gambar 4.7, total persentasi penyisihan logam besi tertinggi terjadi pada kondisi salinitas 20 ppt dan pH 7 (S2P1) yaitu sebesar 80,6% pada hari ke-1 waktu uji. Pada reaktor uji S2P1 terjadi penyisihan logam besi secara fisik sebesar 21,8% dan penyisihan logam besi oleh bakteri sebesar 58,5%. Sedangkan total persentase terendah penyisihan logam besi terjadi pada kondisi salinitas 15 ppt dan pH 5 (S1P2) yaitu sebesar 4,8% pada hari ke-1 waktu uji. Pada reaktor uji S1P2

terjadi penyisihan logam besi secara fisik sebesar 1,5% dan penyisihan logam besi oleh bakteri sebesar 3,5%. Persentasi penyisihan logam besi pada kondisi salinitas 15 ppt dan pH 7 (S1P1) adalah 79,6% pada hari ke-4 waktu uji. Pada reaktor uji S1P1 terjadi penyisihan logam besi secara fisik sebesar 21,8 % dan penyisihan logam besi oleh bakteri sebesar 57,8%. Sedangkan pada kondisi salinitas 20 ppt dan pH 5 (S2P2) adalah 5,0 % pada hari ke-1 waktu uji. Pada reaktor uji S2P2 terjadi penyisihan logam besi secara fisik sebesar 1,4% dan penyisihan logam besi oleh bakteri sebesar 3,6%.

Logam besi memiliki kelarutan yang sangat rendah pada pH normal (Andrews *et al.*, 2003). Oleh karena itu bakteri menggunakan beberapa mekanisme untuk melarutkan dan mengangkut logam besi. Mekanisme tersebut dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu pertama dengan memproduksi *chelatores* untuk mengais logam besi. Cara kedua yaitu dengan mereduksi besi yang tidak larut menjadi besi terlarut. Cara ketiga yaitu dengan proses protonasi, sehingga pH eksternal menjadi turun untuk membuat besi lebih mudah larut (Guerinot, 1994). Salah satu mekanisme terpenting yang digunakan oleh organisme untuk melarutkan zat besi adalah produksi *chelatores* yang disebut siderophore. Siderophore memiliki berat molekul yang rendah yang memudahkan pelarutan dan pengangkutan logam besi ke dalam sel (Crosa, 1989).

Berdasarkan pada Gambar 4.7, bakteri *Burkholderia pseudomallei* memiliki efisiesni yang tinggi dalam penyisihan logam besi dengan lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri tersebut. Coenye dan Vandamme (2003) menyatakan bahwa *Burkholderia pseudomallei* memiliki metabolik yang unik dan dapat digunakan sebagai agen bioremediasi. *Burkholderia pseudomallei* menghasilkan *hydroxamate* tipe siderophore dan *malleobactin* dalam proses menyisihkan logam besi secara signifikan (Alice *et al.*, 2006). Genus *Burkholderia* diketahui menggunakan empat jenis siderophore, yaitu *pyochelin*, *ornibactin*, *cepabactin* dan *cepaciachelin* untuk melarutkan dan mengangkut logam besi (Thomas, 2007). *Cepabactin* adalah *hydroxamate* siklik, yang mampu mengangkut zat besi untuk pertumbuhan bakteri (Meyer *et al.*, 1989).

Proses penyisihan logam besi oleh bakteri *Burkholderia pseudomallei* diawali dengan bakteri tersebut menghasilkan senyawa *hydroxamate* tipe siderophore. Kemudian senyawa siderophore mengikat logam besi terlarut membentuk senyawa kompleks besi siderophore. Senyawa kompleks besi siderophore kemudian dikenali oleh reseptor spesifik pada membran luar sel bakteri dan dikirim ke *ABC transporters* di dalam membran sitosolik oleh protein pengikat periplasma dan selanjutnya disalurkan ke dalam sitosol. Transportasi ini dimediasi oleh transduksi energi kompleks protein TonB-ExbB-ExbD (Andrews *et al.*, 2003). Senyawa kompleks besi siderophore kemudian dipisahkan oleh pereduksi besi. Siderophore yang telah terpisah kemudian didaur ulang oleh sel bakteri (Guerinot, 1994).

a. Analisis Pengaruh pH terhadap Penyisihan Logam Besi

Pada reaktor uji variasi pH yang digunakan pH 7 dan pH 5. Penentuan nilai variasi pH disesuaikan dengan kondisi lingkungan yang cenderung dengan pH netral dan pH optimum pertumbuhan bakteri pada kondisi asam. Berdasarkan Gambar 4.6 persentase penyisihan logam besi oleh bakteri pada kondisi salinitas 15 ppt dan pH 7 (S1P1) adalah 57,8% pada hari ke-4 waktu uji. Sedangkan pada diketahui persentase penyisihan logam besi oleh bakteri terjadi pada kondisi salinitas 20 ppt dan pH 7 (S2P1) yaitu sebesar 58,5 % pada hari ke-1 waktu uji. Pada reaktor dengan kondisi pH 7 (reaktor S1P1 dan S2P1) terjadi penyisihan logam besi yang tinggi. Penyisihan logam besi yang tinggi dikarenakan proses penyisihan logam besi berada pada pH yang optimum bakteri. Tong *et al* (1996) menyatakan bahwa bakteri *Burkholderia pseudomallei* memiliki pH optimum pada kisaran 5 – 8. Pada Gambar 4.5 menunjukan bahwa rentang pH reaktor S1P1 dan S2P1 berada pada pH antara 6,1-7,1 yang termasuk kedalam rentang pH optimum bakteri. Proses penyisihan logam berat akan optimal pada pH optimum (Leroi *et al.*, 2012).

Sedangkan pada kondisi pH 5 (reaktor S1P2 dan S2P2), terjadi penyisihan logam besi oleh bakteri yang sangat kecil. Berdasarkan Gambar 4.6 persentase penyisihan logam besi oleh bakteri pada kondisi salinitas 15 ppt dan pH 5 (S1P2) yaitu sebesar 3,5% pada hari ke-1 waktu uji. Sedangkan persentase

penyisihan logam besi oleh bakteri pada kondisi salinitas 20 ppt dan pH 5 (S2P2) adalah 3,6 % pada hari ke-1 waktu uji. Berdasarkan Gambar 4.5, nilai pH hari ke-1 pada reaktor S1P2 adalah 4,3 dan S2P2 adalah 4,5. Tong *et al* (1996) menyatakan bahwa pada pH $\leq 4,5$ terjadi inaktivasi bakteri *Burkholderia pseudomallei* dengan cepat. Inaktivasi bakteri menyebabkan penyisihan logam besi menjadi sangat kecil. Pada pH yang tidak optimal juga mengakibatkan terganggunya kinerja enzim-enzim yang menyebabkan terganggunya pertumbuhan bakteri itu sendiri (Pelczar dan Chan, 1986; Suriani *et al.*, 2013).

b. Analisis Pengaruh Salinitas terhadap Penyisihan Logam Besi

Pada reaktor uji variasi salinitas yang digunakan adalah salinitas 15 ppt dan 20 ppt. Penentuan nilai variasi salinitas berdasarkan salinitas dari air tepi laut tempat isolasi bakteri *Burkholderia pseudomallei*. Menurut Goetz (1986), air tawar memiliki salinitas kurang dari 0,5 ppt. Air payau memiliki salinitas antara 0,5 ppt – 30 ppt. Sedangkan air laut memiliki salinitas antara 30 ppt – 50 ppt. Salinitas dari air tepi laut tempat isolasi bakteri *Burkholderia pseudomallei* masuk dalam kategori air payau yaitu salinitas antara 0,5 ppt – 30 ppt. Salinitas mempengaruhi tekanan osmotik yang terjadi pada mikroorganisme. Tekanan osmotik terjadi akibat dari perbandingan zat terlarut di dalam sel dan di luar sel tidak sama. Umumnya bakteri akan tumbuh dengan baik dalam substrat yang memiliki tekanan yang sedikit lebih rendah dari tekanan osmotik di dalam selnya (Sari *et al.*, 2011).

Berdasarkan Gambar 4.6 persentasi penyisihan logam besi oleh bakteri pada kondisi salinitas 15 ppt dan pH 7 (S1P1) adalah 57,8% pada hari ke-4 waktu uji. Sedangkan pada diketahui persentasi penyisihan logam besi oleh bakteri terjadi pada kondisi salinitas 20 ppt dan pH 7 (S2P1) yaitu sebesar 58,5 % pada hari ke-1 waktu uji. Kondisi salinitas 20 ppt dan 15 ppt tidak mempengaruhi persentase penyisihan yang signifikan terhadap penyisihan logam besi oleh bakteri. Ini juga di tunjukan pada reaktor dengan penyisihan logam besi oleh bakteri yang kecil yaitu kondisi salinitas 15 ppt dan pH 5 (S1P2) yaitu sebesar 3,5% pada hari ke-1 waktu uji dengan kondisi salinitas 20 ppt dan pH 5

(S2P2) adalah 3,6%. Hal ini dikarenakan pada kadar 15 ppt – 20 ppt tidak membuat penurunan kelangsungan hidup bakteri secara signifikan. Inglis dan Sagripati (2006) menyatakan bahwa bakteri *Burkholderia pseudomallei* dapat bertahan terpapar larutan yang mengandung salinitas kurang dari 25 ppt NaCl. Kelangsungan hidup bakteri *Burkholderia pseudomallei* akan menurun secara signifikan pada salinitasi diatas 25 ppt NaCl.

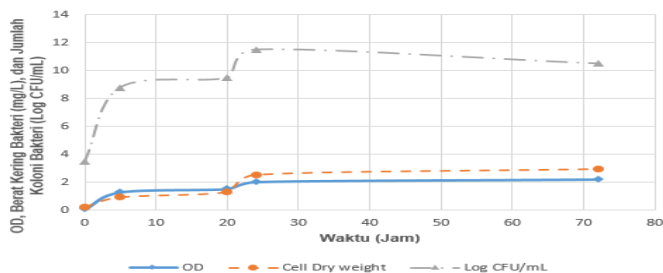
4.2.2 Laju Kinetika Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri

4.2.2.1 Pengukuran Konsentrasi Biomassa Sel Bakteri

Sebelum dilakukan perhitungan laju kinetika, dilakukan pengukuran konsentrasi biomassa sel bakteri. Tujuannya untuk mendapatkan grafik hubungan antara *optical density*, berat kering bakteri dan jumlah koloni bakteri dalam kurun waktu tertentu. Parameter yang digunakan dalam pengukuran konsentrasi biomassa sel bakteri adalah *optical density*, berat kering bakteri dan jumlah koloni bakteri. Pengukuran parameter tersebut dilakukan pada jam ke-0, jam ke-5, jam ke-20, jam ke-24, dan jam ke-72. Hasil dari pengukuran terhadap parameter tersebut akan diplotkan kedalam bentuk grafik. Hasil pengukuran konsentrasi biomassa sel bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan dan disajikan dalam bentuk grafik pada Gambar 4.8.

Tabel 4. 4 Hasil Pengukuran Konsentrasi Biomassa Sel Bakteri

Waktu (Jam)	<i>Optical density</i>	Berat kering bakteri (mg/mL)	Jumlah koloni bakteri (Log CFU/mL)
0	0,09	0,25	3,50
5	1,30	0,95	8,80
20	1,53	1,33	9,50
24	2,04	2,56	11,50
72	2,23	2,98	10,50



Gambar 4. 8 Grafik Konsentrasi Biomassa Sel Bakteri

Untuk menentukan berat kering bakteri (mg/mL) dilakukan interpolasi berdasarkan grafik konsentrasi biomassa sel bakteri (Gambar 4.8) terhadap hasil pengukuran *optical density* pada uji penyisihan logam besi oleh bakteri. Berat kering bakteri (mg/mL) akan digunakan untuk menghitung laju kinetika menggunakan model persamaan kinetika *pseudo first order* dan *pseudo second order*.

4.2.2.2 Perhitungan Laju Kinetika Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri

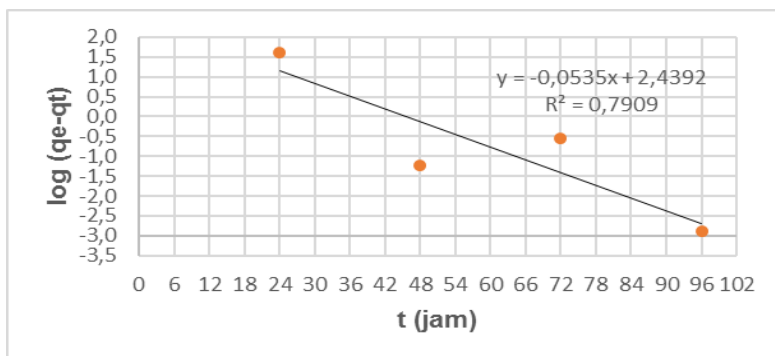
Perhitungan laju kinetika penyisihan logam besi oleh bakteri menggunakan model persamaan kinetika *pseudo first order* dan *pseudo second order*. Perhitungan laju kinetika hanya dilakukan pada reaktor uji dengan persentase penyisihan yang tinggi yaitu reaktor uji S1P1 dan S2P1. Model persamaan kinetika *pseudo first order* dan *pseudo second order* untuk menentukan laju kinetika penyisihan logam besi pada reaktor uji S1P1 dan S2P1 dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan Tabel 4.6. Model persamaan kinetika *pseudo first order* pada reaktor uji S1P1 dapat dilihat pada Gambar 4.9. Model persamaan kinetika *pseudo first order* pada reaktor uji S2P1 dapat dilihat pada Gambar 4.10. Model persamaan kinetika *pseudo second order* pada reaktor uji S1P1 dapat dilihat pada Gambar 4.11. Model persamaan kinetika *pseudo second order* pada reaktor uji S2P1 dapat dilihat pada Gambar 4.12.

Tabel 4. 5 Model Persamaan Kinetika *Pseudo First Order*

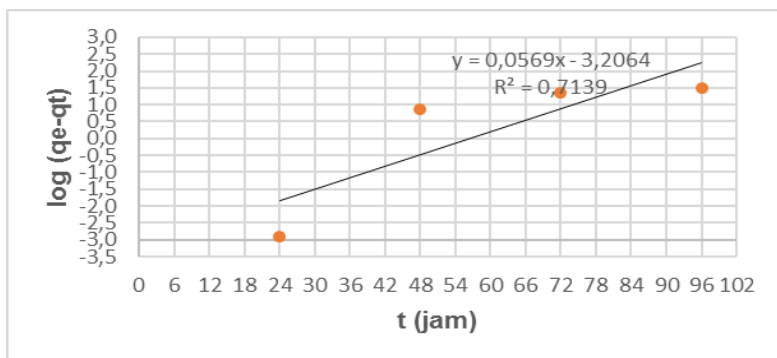
Reaktor	Konsentrasi Awal (mg/L)	<i>Pseudo First Order</i>		
		q_e (mg/g)	k_1 (jam ⁻¹)	R^2
S1P1	15,83	49,04	-0,123	0,7909
S2P1	15,83	67,89	-0,018	0,7139

Tabel 4. 6 Model Persamaan Kinetika *Pseudo Second Order*

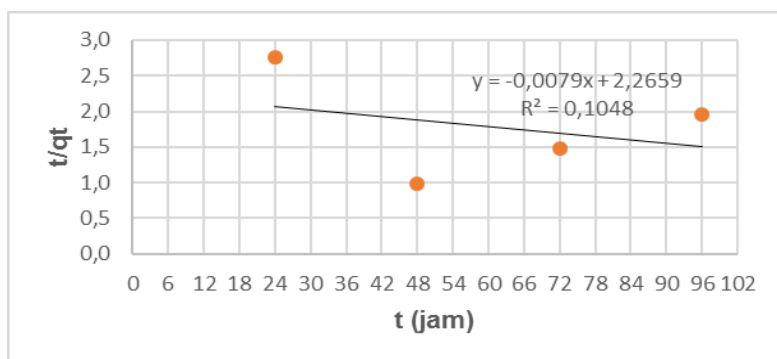
Reaktor	Konsentrasi Awal (mg/L)	<i>Pseudo Second Order</i>		
		q_e (mg/g)	k_2 (mg/g.jam)	R^2
S1P1	15,83	49,04	0,00018	0,1048
S2P1	15,83	67,89	-0,00038	0,9668



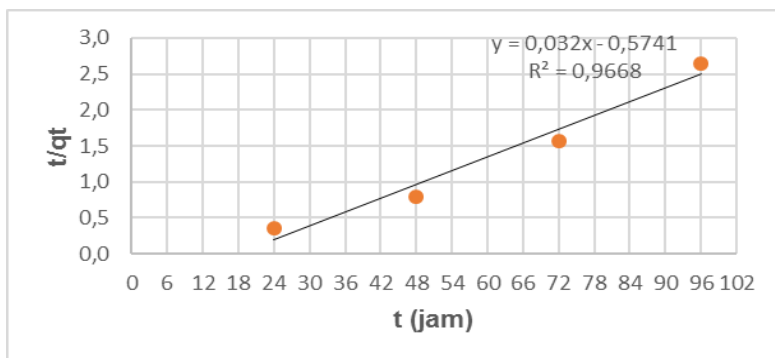
Gambar 4. 9 Model Persamaan Kinetika *Pseudo First Order* pada Reaktor Uji S1P1



Gambar 4. 10 Model Persamaan Kinetika *Pseudo First Order* pada Reaktor Uji S2P1



Gambar 4. 11 Model Persamaan Kinetika *Pseudo Second Order* pada Reaktor Uji S1P1



Gambar 4. 12 Model Persamaan Kinetika *Pseudo Second Order* pada Reaktor Uji S2P1

Berdasarkan pada Tabel 4.5 dan Tabel 4.6, pada salinitas yang berbeda pada reaktor uji S1P1 (salinitas 15 ppt) dan S2P1 (salinitas 20 ppt) memiliki nilai q_e , k_1 , k_2 , dan R^2 yang berbeda. Ini menunjukan bahwa salinitas berpengaruh terhadap nilai q_e , k_1 , k_2 , dan R^2 pada model persamaan kinetika. Salinitas mempengaruhi tekanan osmotik yang terjadi pada bakteri. Tekanan osmotik terjadi akibat dari perbandingan zat terlarut di dalam sel dan di luar sel tidak sama. Umumnya bakteri akan tumbuh dengan baik dalam substrat yang memiliki tekanan yang sedikit lebih rendah dari tekanan osmotik di dalam selnya (Sari *et al.*, 2011).

Berdasarkan Tabel 4.5, Gambar 4.9, dan Gambar 4.10, dengan menggunakan model persamaan kinetika *pseudo first order* pada reaktor uji S1P1 diperoleh nilai $q_e = 49,04$ mg/g, $k_1 = -0,123$ jam⁻¹, dan $R^2 = 0,7909$. Sedangkan pada reaktor uji S2P1 diperoleh nilai $q_e = 67,89$ mg/g, $k_1 = -0,018$ jam⁻¹, dan $R^2 = 0,7139$. Dengan menganalisis berdasarkan nilai R^2 , terjadi proses sorpsi yang baik oleh bakteri terhadap logam besi karena nilai R^2 yang besar. Pada proses biosorpsi terdapat beberapa parameter yang menentukan laju biosorpsi, diantaranya properti struktural baik sorbate dan biosorbent (seperti komposisi protein dan karbohidrat serta kerapatan muatan permukaan, topografi dan luas permukaan). Keberadaan biosorbent, konsentrasi awal ion metal dan keberadaan ion lainnya (yang mungkin berkompetisi

pada lokasi biosorpsi aktif) juga mempengaruhi laju biosorpsi (Tuzun *et al.*, 2005). Biosorpsi ion logam berat pada berbagai mikroorganisme melalui dua tahap, yaitu tahap *uptake* awal yang cepat pada permukaan adsorpsi komponen dinding sel dan selanjutnya mengalami penurunan laju uptake pada saat transpor membran ion logam menuju sitoplasma sel. Pada permukaan sel bakteri mengandung polisakarida, protein dan lipid yang memiliki kemampuan untuk berikatan dengan ion logam (Susanti dan Nofdianto, 2014).

Berdasarkan Tabel 4.6, Gambar 4.11, dan Gambar 4.12, dengan menggunakan model persamaan kinetika *pseudo second order* pada reaktor uji S1P1 diperoleh nilai $q_e = 49,04$ mg/g, $k_2 = -0,00018$ mg/g.jam, dan $R^2 = 0,1048$. Sedangkan pada reaktor uji S2P1 diperoleh nilai $q_e = 67,89$ mg/g, $k_2 = -0,00038$ mg/g.jam, dan $R^2 = 0,9668$. Berdasarkan pada nilai R^2 , pada reaktor uji S1P1 memiliki nilai R^2 yang sangat kecil, sedangkan pada reaktor uji S2P1 memiliki nilai R^2 yang sangat besar (R^2 mendekati 1). Jika dibandingkan dengan model persamaan kinetika *pseudo first order*, pada reaktor uji S1P1 model persamaan kinetika *pseudo first order* ($R^2 = 0,7909$) menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan model persamaan kinetika *pseudo second order* ($R^2 = 0,1048$) karena R^2 yang dihasilkan lebih besar. Sedangkan pada reaktor uji S2P1 model persamaan kinetika *pseudo second order* ($R^2 = 0,9668$) menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan model persamaan kinetika *pseudo first order* ($R^2 = 0,7139$) karena R^2 yang dihasilkan lebih besar (R mendekati 1). Hal ini sesuai dengan pernyataan Mishra *et al* (2013) yang menyatakan bahwa dalam banyak kasus, model persamaan kinetika *pseudo second order* menggambarkan akurasi model kinetika yang tinggi berdasarkan nilai R^2 jika dibandingkan dengan nilai R^2 yang diperoleh dari model kinetika *pseudo first order*.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan diatas, maka kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Nilai MIC dengan metode *screening* untuk bakteri *Burkholderia pseudomallei* terhadap logam Fe antara 100 - 250 mg/L.
2. Pesentase penyisihan logam Fe oleh bakteri *Burkholderia pseudomallei* optimum pada pH 7. Reaktor dengan pH 7 memiliki persentase penyisihan sebesar 57,8 % pada salinitas 15 ppt dan 58,5 % pada salinitas 20 ppt.
3. Salinitas berpengaruh terhadap model persamaan kinetika penyisihan logam Fe oleh bakteri *Burkholderia pseudomallei*. Pada kondisi pH 7 dan salinitas 15 ppt model persamaan kinetika *pseudo first order* menunjukkan hasil biosorpsi yang lebih baik ($R^2 = 0,7909$) dengan kostanta laju kinetika (k_1) sebesar $-0,123 \text{ jam}^{-1}$, sedangkan pada kondisi pH 7 dan salinitas 20 ppt model persamaan kinetika *pseudo second order* menunjukkan hasil biosorpsi yang lebih baik ($R^2 = 0,9668$) dengan kostanta laju kinetika (k_2) sebesar $-0,00038 \text{ mg/g.jam}$.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat kami sampaikan untuk penelitian selanjutnya yaitu :

1. Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan berbagai variasi konsentrasi logam besi (Fe) dengan tetap mengacu pada nilai MIC.
2. Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan logam Fe di dalam sel bakteri tersebut.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR PUSTAKA

- Abou-Shanab, R.A., Ghanem, N., Ghanem, K., dan Al-Kolaibe, A. 2008. *The Role of Bacteria on Heavy Metal Extraction and Uptake by Plants Growing on Multi-Metal-Contaminated Soils. World Journal of Microbiology and Biotechnology* ; 24(2), pp 253-262.
- Alaerts, G. dan Sri Santika Sumestri. 1987. *Metode Penelitian Air*. Surabaya: Usaha Nasional.
- Alice, A.F., Lopez, C.S., Lowe, C.A., Ledesma, M.A., Crosa, J.H. 2006. *Genetic and transcriptional analysis of the siderophore malleobactin biosynthesis and transport genes in the human pathogen Burkholderia pseudomallei K96243*. J Bacteriol .188: 1551–1566.
- Alnaimat, S., Shattal, S.A., Althunibat, O., Alsbou, E., Amasha, R. 2017. *Iron (II) and other heavy-metal tolerance in bacteria isolated from rock varnish in the arid region of Al-Jafer Basin, Jordan. Journal of Biodiversitas*. 18(3): 1250-1257.
- ANZECC dan ARMCANZ 2000. *Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality*.
- Astuti, Ristia. 2010. *Isolasi dan Seleksi Bakteri Pencerna Serat Asal Rumen Kerbau Berdasarkan Pertumbuhannya pada Berbagai Pakan Sumber Serat*. Skripsi. Departemen Nutrisi dan Makanan Ternak, IPB, Bogor.
- Atkinson, B.W., Bux, F.H., dan Kasan, C. 1998. *Considerations for application of biosorption technology to remediate metal-contaminated industrial effluents*. Water SA. 24 ;129-135.
- Ahemad, Munees. 2012. *Implication of Bacterial Resistance Against Heavy Metals in Bioremediation : A review*. IIOAB Journal, 3(3) :39-46.
- Andrews, S. C., Robinson, A. K., dan Rodriguez-Quinones, F. 2003. *Bacterial iron homeostasis. FEMS Microbiology Reviews*, 27(2-3), 215–237.
- Basha, S., Gaur, P.M., Thorat, R.B., Trivedi, R.H., Mukhopadhyay, S.K., Anand, N. Desai, S.H., Mody K.H., dan Jha, B. 2007. *Heavy metal Content of Suspended Particulate Matter at World's Largest Ship-*

- Breaking Yard, Alang-Sosiya, India. Water Air Soil Pollut.* 178:373–384.
- Benson. 2001. *Microbiological Application*. New York: Mc. Graw Hill Publisher.
- Chen, Y.S., Chen, S.C., Kao, C.M., Chen, Y.L. 2003. *Effects of soil pH, temperature and water content on the growth of Burkholderia pseudomallei*. *Folia Microbiol.* 48 (2): 253–256.
- Coenye, T., and Vandamme, P. 2003. *Diversity and significance of Burkholderia species occupying diverse ecological niches*. *Environ Microbiol.* 5: 719–729.
- Cox, C.D. 1980. *Iron uptake with ferripyochelin and ferric citrate by Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Bacteriol.* 142: 581–587.
- Crosa, J.H. 1989. *Genetics and molecular biology of siderophore-mediated iron transport in bacteria*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 53(4), 517–530.
- Deepali. 2011. *Bioremediation of Chromium (VI) From Textile Industry's Effluent and Contaminated Soil Using Pseudomonas putida*. *Journal of Energy and Environment*, 2 (1), 24-31.
- Dubey, R.C., dan Maheshwari, D.K. 2005. *Practical Microbiology*. S. Chand and Company Ltd, New Delhi, India.
- Dwipayana dan Ariesyady, H.D. 2010. Identifikasi Keberagaman Bakteri pada Lumpur Hasil Pengolahan Limbah Cat dengan Teknik Konvensional. Program Studi Teknik Lingkungan, ITB, Bandung.
- Gaudy, A.F. dan Gaudy, E.T. 1980. *Microbiology for Environmental Scientists and Engineers*. McGraw-Hill, USA.
- Goetz, P.W. 1986. *The New Encyclopaedia Britannica (15th edn)*. Encyclopaedia Britannica Inc., Chicago.
- Guerinot, M.L. 1994. *Microbial iron transport*. *Annual Review of Microbiology*, 48, 743–72.
- Haase, A., Janzen, J., Barrett, S., Currie, B. 1997. *Toxin production by Burkholderia pseudomallei strains and correlation with severity of melioidosis*. *Journal of Medical Microbiology*. 46 (7): 557–63.

- Hasan, A.B., Kabir, S., Reza, A.H.M.S., Zaman, M.N., Ahsan, M.A., Akbor, M.A., Rashid, M.M. 2013. *Trace metals pollution in seawater and groundwater in the ship breaking area of Sitakund Upazilla, Chittagong, Bangladesh. Journal of Marine Pollution Bulletin.* 71 (2) : 317-324.
- Ho, Y.S., & McKay, G. 1999. *Pseudosecond Order Model for Sorption Processes. Process Biochem.* 34(5): 451–465.
- Hossain, S. M., Balakrishnan V., Rahman, N.N. N. A., Sarker, M.Z.I., Kadir, M.O.A. 2012. *Treatment of Clinical Solid Waste Using a Steam Autoclave as a Possible Alternative Technology to Incineration. International Journal of Environmental Research Public Health,* 9 (3), 855-867.
- Ibrahim, Haytham M. M.. 2016. *Biodegradation of Used Engine Oil by Novel Strains of *Orchrobactrum anthropic* HM-1 and *Citrobacter freundii* HM-2 Isolated from Oil Contaminated Soil. Journal of Biotech,* 3(226): 1-13.
- Ika, Tahril, dan Said, I. 2012. Analisis Logam Timbal (Pb) dan Besi (Fe) dalam air laut di wilayah pesisir pelabuhan ferry taipa Kecamatan Palu Utara.J. Akad. Kim. 1(4): 181-186.
- Inglis, T.J.J., dan Sagripanti, J.L., 2006. *Environmental Factors That Affect the Survival and Persistence of *Burkholderia pseudomallei*. American Society for Microbiology.* 72(11): 6865–6875.
- Irawati, W., Parhusip, A.J.N., Christian, S., Yuwono, T., 2017. *The potential capability of bacteria and yeast strains isolated from Rungkut Industrial Sewage in Indonesia as a bioaccumulators and biosorbents of copper. Biodiversitas.* 18(3): 971-977.
- Kacar, A., dan Kocyigit, A. 2013. *Characterization of Heavy Metal and Antibiotic Resistant Bacteria Isolated from Aliaga Ship Dismantling Zone, Eastern Aegean Sea, Turkey. International Journal of Environmental Research* 7(4):895-902.
- Knob, A., dan Carmona, E.C. 2008. *Xylanase production by *Penicillium sclerotiorum* and its characterization. World Applied Sciences Journal.* 4(2): 277-283.

- Kumar, V., Singh, S., Manhas, A., Negi, P., Singla, S., Kaur, P., Bhadrecha, P., Datta, S., Kalia, A., Joshi, R., Singh, J., Sharma, S., dan Upadhyay, N. 2014. *Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon by Using Pseudomonas Species Isolated from Petroleum Contaminated Soil. Oriental Journal of Chemistry*, 30 (4), 1771-1776.
- Kumaran, N.S. dan Dharani, G. 2011. *Decolorization of Textile Dyes by White Rot Fungi Phanerocheatae chrysosporium and Pleurotus sajor-caju. Journal of Applied Technology in Environmental Sanitation*, 1, 361-370.
- Lagergren. S., 1898. *About the theory of so-called adsorption of soluble substances.* Kungliga Suensk Vetenskapsakademiens Handlingar. 241, pp.1-39.
- Leroi, F., Papa, A.F., Marie. F.p., Frederique, C., Regis, B. 2012. *Influence of temperature, pH, and NaCl concentration on the maximal growth rate of Brochothrix thermosphacta and a bioprotectiv bacteria Lactococcus piscium CNCM I-4031. Food Microbiology*, 31(2): 222-228.
- Limmathurotsakul, D., Golding, N., Dance, D. A. B., Messina, J. P., Pigott, D. M., Moyes, C. L., Rolim, D. B., Bertherat, E., Day, N. P. J. 2016. *Predicted global distribution of Burkholderia pseudomallei and burden of melioidosis. Nature Microbiology*. 1 (1): 15008.
- Macmud, M. 2001. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. Buletin AgroBio, 4(1), 24-32.
- Meyer, J. M., Hohnadel, D., & Hallé, F. 1989. *Cepabactin from Pseudomonas cepacia, a new type of siderophore. Journal of General Microbiology*, 135(6): 1479–87.
- Mishra, V., Balomajunder, C., Agarwal, V.K., 2013. *Dynamic, mechanistic, and thermodynamic modeling of Zn(II) ion biosorption onto zinc sequestering bacterium VMSDMCM. Clean: Soil, Air, Water*. 41: 883-889.
- Moore, J.W. 1991. *Inorganic Contaminant of Surface Water Springer Verlag*. New York.
- Muthuraman, S., Natarajan, K., Srinivasan, S., Thatheyus, A.J., Ramya, D. 2013. *Bacterial resistance to chosen heavy*

- metals. Journal of Environmental Science.* 8(12): (475-480).
- Naimah, S., dan Ermawati, R., 2011. Biosorpsi Logam Berat Cr (VI) dari Limbah Industri Pelapisan Logam Menggunakan Biomassa *Saccharomyces cerevisiae* dari Hasil Samping Fermentasi Bir. *Jurnal Kimia dan Kemasan.* 33(1): 2549-9424.
- Neser, G., Unsalan, D., Tekogul, N., dan Lauridsen, F.S. 2008. *The shipbreaking industry in Turkey: environmental, safety and health issues. Journal of Cleaner Production* 2008; 16:350-358.
- Onrizal. 2005. Restorasi Lahan Terkontaminasi Logam Berat. e-USU Repository : Medan.
- Pamungkas, A. dan Zulaika, E. 2015. Viabilitas *Azotobacter* pada Medium yang Terpapar Logam Besi. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4(1) ; 2337-3520.
- Parulian, A. 2009. Monitoring dan Analisis Kadar Aluminium (Al) dan Besi (Fe) Pada Pengolahan Air Minum PDAM Tirtanadi Sunggal. Medan : Pascasarjana Universitas Sumatera Utara (USU).
- Pelczar dan Chan, 1989, *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid II*, diterjemahkan oleh Ratna Siri Hadioetomo, Teja Imas, S. Sutami, Sri Lestari, Universitas Indonesia, Jakarta, 545-873.
- Priadie, Bamabang. 2012. Teknik Bioremediasi sebagai Alternatif dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan.* 10(1):38-48
- Purwanti, I.F., Abdullah, S.R.S., Hamzah, A., Idris, M., Basri, H., Mukhlisin, M., dan Latif, M.T. 2015. *Biodegradation of Diesel by Bacteria Isolated from Scirpus mucronatus Rhizosphere in Diesel-Contaminated Sand. Journal of Advanced Science*, 2 (1), 140-143.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/MENKES/PER/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum.
- Rahmawati, E., Ermawati, R., dan Naimah, S. 2010. Teknologi Biosorpsi oleh mikroorganisme , Solusi Alternatif untuk Mengurangi Pencemaran Logam Berat. *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 32(1): 34-40.

- Rolfe, M.D., Rice, C.J., Lucchini, S., Pin, C., Thompson, A., Cameron, A.D.S., Alston, M., Stringer, M.F., Betts, R.P., Baranyi, J., Peck, M.W., and Hinton, J.C.D. 2012. *Lag Phase Is a Distinct Growth Phase That Prepares Bacteria for Exponential Growth and Involves Transient Metal Accumulation. Jurnal of Bacteriology.* 194(3): 686–701.
- Sarbini, K. 2012. Biodegradasi Pyrena Menggunakan Bacillus subtilis C19. Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Sari, N.A., Fauziah, R.N., Nurbaety, A.T. 2011. Pengaruh Suhu dan Salinitas terhadap Viabilitas Bakteri Aeromonas hydrophila dan Bacillus sp.. Skripsi. Departemen Budidaya Perairan. IPB. Bogor.
- Stephan, H., Freund, S., Beck, W., Jung, G., Meyer, J.M., Winkelman, G. 1993. *Ornibactins a new family of siderophores from Pseudomonas. Biometals*, 6(2).
- Suhendrayatna. 2001. *Heavy metal Bioremoval by Microorganisms: A literature Study, Institute for Technology Studies-Chapter Japan.*
- Supriantini, E. dan Endrawati, H. 2015. Kandungan Logam Berat Besi (Fe) Pada Air, Sedimen, Dan Kerang Hijau (*Perna viridis*) Di Perairan Tanjung Emas Semarang. Jurnal Kelautan Tropis, 18(1) : 38-45.
- Suriani, S., Soemarno, dan Suharjono, 2013. Pengaruh Suhu dan pH terhadap Laju pertumbuhan Lima Isolat Bakteri Anggota Genus Pseudomonas yang diisolasi dari Ekosistem Sungai Tercemar Deterjen di sekitar Kampus Universitas Brawijaya. Jurnal Pembangunan dan Alam Lestari, 2(3)
- Susanti, E., dan Nofdianto. 2014. Model Kinetika Pseudo Second Order untuk Penyerapan Ion Cr⁶⁺ dari Media Air ke Biomassa Perifition. Limnotek. 21(1); 95-102.
- Tarigan, J. 1988. Pengantar Mikrobiologi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Kependidikan, Jakarta.

- Thomas, M.S. 2007. *Iron acquisition mechanisms of the Burkholderia cepacia complex*. *Biometals*, 20(3-4), 431–52.
- Tuzun I., Bayramoglu, G., Yalcin, E., Basaran, G., Celik, G., & Arica, Y. 2005, *Equilibrium and Kinetic Studies on Biosorption of Hg(II), Cd(II) and Pb(II) ions onto microalgae Chlamydomonas reinhardtii*. *Journal of Environmental*.
- Tong, S., S. Yang, Z. Lu, and W. He. 1996. *Laboratory investigation of ecological factors influencing the environmental presence of Burkholderia pseudomallei*. *Microbiol. Immunol.* 40:451–453.
- Triatmojo, Suharjono, D.T.H., Sihombing, S.D., dan Wiradyana T.R. 2001. Biosorpsi dan Reduksi Krom Limbah Penyamakan Kulit dengan Biomassa *Fusarium sp* dan *Aspergillus niger*.
- Trihadiningrum, Y. 2012. Mikrobiologi Lingkungan. Surabaya: ITS Press.
- Vidali, M., 2001. *Bioremediation an overview*. *Pure Appl. Chem*, 73(7); 1163 – 1172.
- Vieira, B. dan Volesky. 2000. *Biosorption: a solution to pollution* *Int. Microbiol.* 3(1): 17-24.
- Vijayaraghavan, K dan Yun, Y.S. 2008. *Bacterial biosorbents and biosorption*. *Biotechnology Advances*. 26:266-291.
- Yazid, M. 2007. Kajian Pemanfaatan Bakteri hasil isolasi sebagai Agen Bioremediasi Radionuklida Uranium di Lingkungan. Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan BATAN, Yogyakarta.
- Yuncu, B., Sanin, F.D., dan Yetis, U. 2006. *An Investigation of Heavy Metal Biosorption in Relation to C/N Ratio of Activated Sludge*. *Journal of Hazardous Material* : B137, pp 990-997.
- Zulaika, E., Luqman, A., Arindah, T., dan Sholikah, U. 2012. Bakteri Resisten Logam Berat yang berpotensi sebagai biosorben dan Bioakumulator. Seminar Nasional *Waste Management for Sustainable Urban Development*.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

Lampiran 1 Peremajaan Isolat Bakteri

1. Bakteri induk, media NA miring, dan semua peralatan inokulasi disiapkan sebelum dilakukan proses peremajaan.
2. Jarum ose yang akan digunakan dipanaskan hingga membara kemudian didinginkan dengan cara diangin-anginkan.
3. Penutup tabung dibuka kemudian dilewatkan pada api sebanyak dua kali.
4. Diambil ose bakteri induk dengan cara menggores ose pada bakteri induk.
5. Setelah selesai, mulut tabung dilewatkan pada api dua kali dan ditutup kembali dengan kapas lemak.
6. Penutup tabung NA miring dibuka, kemudian mulut tabung dilewatkan api sebanyak dua kali.
7. Jarum ose yang sudah mengandung bakteri dioleskan secara zig-zag pada media NA miring dimulai dengan dasar tabung.
8. Setelah selesai, mulut tabung dilewatkan pada api dua kali dan ditutup kembali dengan kapas lemak.
9. Semua perlakuan dari tahap 1-8 harus dilakukan secara aseptik, yaitu dekat dengan api (maksimum 20 cm dari api).
10. Jarum ose dipanaskan hingga membara untuk membunuh semua bakteri yang menempel.
11. Tabung NA miring yang telah bakteri disimpan pada inkubator dengan suhu 37° selama 24 jam.
12. Setelah 24 jam, bakteri siap digunakan untuk penelitian.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

Lampiran 2 Tahapan Uji Laju Pertumbuhan Bakteri (*single culture microorganism*)

1. Bakteri yang masing-masing berumur 24 jam yang telah diinokulasikan ke media NA diambil masing-masing 2 koloni.
2. Bakteri di ose dipindahkan ke dalam tabung erlenmeyer bervolume 250 ml yang berisi media cair NB sebanyak 100 ml.
3. Jika bakteri terlihat masih menggumpal dilakukan pengadukan secara manual dengan cara menggoyangkan erlenmeyer.
4. Labu erlenmeyer yang masing-masing sudah berisi isolat bakteri diambil sebanyak ± 3 ml untuk diamati suhu, pH dan *Optical Density* (OD) pada jam ke-0 sebelum diletakkan pada *shaker*.
5. Dilakukan proses pengadukan erlenmeyer dengan tujuan untuk mencampur, meratakan dan menumbuhkan masing-masing bakteri yang telah diinokulasikan pada media cair NB.
6. Proses pengadukan dilakukan selama 24 jam dengan kecepatan pengadukan adalah 150 rpm (Purwanti et al., 2015).
7. Pada 1 jam pertama setelah jam ke-0 dilakukan kembali pengambilan sampel sebanyak ± 3 ml untuk diamati suhu, pH dan *Optical Density* (OD).
8. Pengukuran nilai *Optical Density* (OD) dilakukan dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm (Kumar et al., 2014).
9. Pengamatan dilakukan setiap 1 jam sekali selama 24 jam.
10. Dilakukan juga pengukuran OD, pH dan suhu terhadap blanko yakni berupa media NB yang tidak berisikan bakteri sebagai control.

11. Setelah 24 jam, data *Optical Density* (OD) yang didapat berupa nilai absorbansi digunakan untuk membuat kurva pertumbuhan dengan sumbu X yang merupakan waktu (t) dan sumbu Y merupakan nilai absorbansi sebagai nilai *Optical Density* (OD).
12. Fase eksponensial yang didapatkan nantinya akan digunakan pada tahapan inokulasi bakteri ke media yang mengandung logam besi.

Lampiran 3 Tahapan Inokulasi Bakteri Ke Media yang Mengandung Logam Besi

1. Larutan stoke Ammonium ferro sulfat dienceran sesuai dengan konsentrasi logam besi hasil uji MIC.
2. Bakteri berumur 24 jam yang telah diinokulasikan di media agar miring NA diambil sebanyak 2 koloni kemudian dipindahkan ke dalam tabung erlenmeyer bervolume 250 ml yang berisi media NB sebanyak 150 ml. Tahapan ini berdasarkan Deepali (2011) yang telah disesuaikan.
3. Jika bakteri terlihat masih menggumpal dilakukan pengadukan secara manual dengan cara menggoyangkan masing-masing erlenmeyer.
4. Masing-masing erlenmeyer yang telah berisi bakteri di *shaker* setengah waktu eksponensial *single culture* untuk menumbuhkan bakteri pada media cair NB.
5. Setelah di *shaker*, diambil sebanyak 50 ml media NB yang telah ditumbuhi bakteri dan selanjutnya dituangkan pada tabung *centrifuge*.
6. Dilakukan proses sentrifugasi selama 10 menit dengan putaran sebanyak 4000 rpm (Purwanti et al., 2015).
7. Supernatan yang tidak berisi bakteri dibuang dari tabung *centrifuge*.
8. Tabung *centrifuge* yang berisi masing-masing endapan bakteri dicuci dengan air fisiologis 8.5% (NaCl) steril tanpa dikocok sebanyak 2 kali.
9. Hasil dari pencucian kemudian ditambahkan dengan air fisiologis 8.5% (NaCl) steril sebanyak 30 ml, kemudian dikocok manual hingga tercampur dengan masing-masing endapan bakteri.
10. Diukur nilai *Optical Density* (OD) dengan spektrofotometer yang memiliki panjang gelombang 600 nm (Kumar et al., 2014).

11. Dilakukan *trial and error* absorbansi hingga didapatkan nilai absorbansi sebesar ± 1 A (Purwanti et al., 2015).
12. Bakteri yang telah melewati tahap *trial and error* absorbansi, bakteri dimasukkan ke dalam erlenmayer berisi larutan *Salt Base Solution* (SBS) ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,4 gram, KH_2PO_4 0,4 gram, MgSO_4 0,8 gram, dan ekstrak ragi 0,1 gram dalam 1 liter air) (Irawati et al. 2017) yang mengandung logam besi. Inokulan bakteri sejumlah 10% (v/v) (Samarth et al., 2012) dengan pipet skala (Pyrex, Jerman) sesuai dengan Tabel 3.1.
13. Setelah dilakukan inokulasi bakteri ke dalam media yang mengandung logam besi, bakteri dimasukan kedalam inkubator dengan pengocang suhu 37°C dan kecepatan 150 rpm.

Lampiran 4 Prosedur Pengukuran Konsentrasi Biomassa Sel Bakteri

Menurut Wang (2009) prosedur pengukuran berat kering bakteri (mg/ml) adalah sebagai berikut :

1. Masukkan selembat membran filter selulosa (diameter 0,47 mm dengan pori-pori 0,45 μ m) kedalam oven untuk dikeringkan selama 24 jam
2. Setelah itu membran filter selulosa dimasukkan kedalam desikator selama 15 menit.
3. Membran filter selulosa kemudian ditimbang dengan neraca analitik. Kemudian membran filter selulosa dilapisi dengan Drierite (anhydrous CaSO₄) dan disimpan didalam desikator.
4. Aduk erlenmayer berisi biakan bakteri agar sel tersebar secara merata. Tuangkan 100 ml kultur bakteri ke dalam gelas ukur.
5. Pisahkan sel dari larutan dengan memasukkan laurtan kedalam *vacuum pump* yang berisi selembat membran filter selulosa. Vacuum pump berfungsi untuk mempercepat proses penyaringan sel bakteri.
6. Keringkan selembat membran filter selulosa yang berisi sel bakteri dengan memasukan kedalam oven pada suhu 100°C selama 24 jam.
7. Setelah itu membran filter selulosa berisi sel bakteri dimasukkan kedalam desikator selama 15 menit.
8. Membran filter selulosa berisi sel bakteri kemudian ditimbang dengan neraca analitik.
9. Kemudian dihitung perbedaan berat yaitu berat membran filter selulosa berisi sel bakteri dikuraingi berat membran filter selulosa tanpa sel bakteri.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

Lampiran 5 Hasil Pengukuran AAS

- Hasil Pengukuran AAS Tanggal 1 November 2017



LABORATORIUM TAKI
(Teknologi Air dan Konsultasi Industri)
Departemen Teknik Kimia FTI - ITS
Kampus ITS, Keputih - Sukolilo, Surabaya, Telp. 031-5922935
Fax. 031-5922935, E-mail : lab.taki@chem-eng.its.ac.id

KETERANGAN HASIL ANALISA

No. 20/L.TAKI/XI/2017

Terima dari : **Ibu Harmin**
Mhs.T.I.lingkungan FTSP ITS
Surabaya
Jenis contoh : air
U.analisa : Fe
Diterima tgl. : 1 Nopember 2017

Kode contoh	Hasil analisa Fe ,mg/l	Kode contoh	Hasil analisa Fe ,mg/l
SOP1 D0	15,83	SIP2 D2	16,66
SOP2 D0	0,84	SIP2 D3	17,5
S10	13	SIP2 D4	17,5
SOP1 D4	125	S2P1 D0	3,21
SIP2 D4	0,88	S2P1 D1	3,08
SIP1 D0	1,74	S2P1 D2	4,48
SIP1 D1	14,16	S2P1 D3	5,45
SIP1 D2	6,55	S2P1 D4	5,04
SIP1 D3	6,87	S2P2 D0	16,66
SIP1 D4	3,22	S2P2 D1	15,83
SIP2 D0	17,5	S2P2 D2	17,5
SIP2 D1	16,66	S2P2 D3	19,16
		S2P2 D4	17,5

Keterangan :

• Hasil analisa tersebut diatas berdasarkan contoh yang kami terima.



Siti NurKhamidah, ST, MS, Ph.D
Kepala Laboratorium TAKI

- Hasil Pengukuran AAS Tanggal 4 Desember 2017



LABORATORIUM TAKI
 (Teknologi Air dan Konsultasi Industri)
 Departemen Teknik Kimia FTI - ITS
 Kampus ITS, Keputih - Sukolilo, Surabaya, Telp. 031-5922935
 Fax. 031-5922935, E-mail : lab.taki@chem-eng.its.ac.id

KETERANGAN HASIL ANALISA

No. 07 /LTAKI/X/2017

Terima dari : **Ibu Harmin**
 Mhs. T.Lingkungan FTSP-ITS
 Surabaya
 Jenis contoh : Air
 U analisa : Fe
 Diterima tgl. : 4 Desember 2017

Parameter	Hasil analisa	Metode analisa
	Fe .mg/l	
1	2,50	AAS
2	6,51	
3	11,49	

Keterangan :

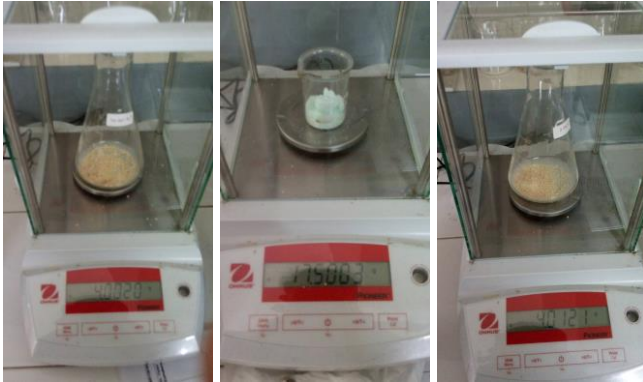
- Hasil analisa tersebut diatas berdasarkan contoh yang kami terima.



Siti NurKhamidah, ST, MS, Ph.D
 Kepala Laboratorium TAKI

Lampiran 6 Dokumentasi Kegiatan

- Persiapan Penelitian

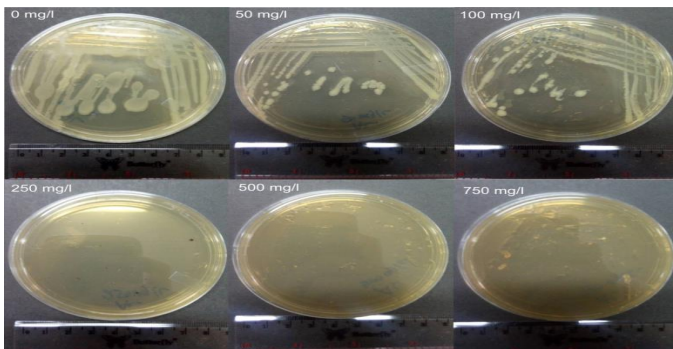


- Uji Pengaruh Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan Bakteri





- **Uji MIC dengan Metode Screening**



- **Reaktor Uji Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri**



Lampiran 7 Hasil Perhitungan

- Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri pada Uji Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan Bakteri

pH	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)	
	24 Jam	48 Jam
5	$>250 \times 10^7$	$>250 \times 10^6$
4,5	70×10^7	$>250 \times 10^6$
4	10×10^7	103×10^6
3,5	-	6×10^6
3	-	4×10^6

- Hasil Perhitungan *Optical Density* pada Uji Laju Pertumbuhan Bakteri

Waktu (jam)	<i>Optical Density</i>	
	pH 7	pH 5
0	0,000	0,000
1	0,007	0,011
2	0,027	0,019
3	0,030	0,021
4	0,009	0,010
5	0,013	0,012
6	0,009	0,008
24	1,388	1,270
48	2,012	1,814
72	1,503	1,567
96	1,601	1,645

- Hasil Perhitungan Luas Permukaan Pertumbuhan Bakteri pada Uji MIC dengan Metode *Screening*

$$L = \frac{\text{Luas permukaan konsentrasi tertentu}}{\text{Luas permukaan konsentrasi nol}} \times 100\%$$

0 mg/L (NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	= 42 m ²	
50 mg/L (NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	= 35 m ²	= 83,33 %
100 mg/L (NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	= 26 m ²	= 61,91 %
250 mg/L (NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	= 0 m ²	= 0 %
500 mg/L (NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	= 0 m ²	= 0 %
750 mg/L (NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	= 0 m ²	= 0 %

- Hasil Pengukuran *Optical Density* pada Uji Penyisihan logam besi oleh Bakteri

Reaktor	Hari ke-				
	0	1	2	3	4
Kontrol 1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Kontrol 2	0,032	0,106	0,073	0,068	0,073
S1P1	0,096	0,094	0,086	0,065	0,295
S1P2	0,070	0,080	0,082	0,209	0,396
S2P1	0,154	0,076	0,123	0,110	0,366
S2P2	0,160	0,093	0,077	0,284	0,590

- Hasil Pengukuran Suhu (°C) pada Uji Penyisihan logam besi oleh Bakteri

Reaktor	Hari ke-				
	0	1	2	3	4
Kontrol 1	28,5	31,3	31,8	31,5	31,2
Kontrol 2	29,9	31,4	31,7	31,3	31,3
S1P1	30,0	31,2	31,6	31,0	30,9
S1P2	29,8	31,3	31,4	30,9	31,2
S2P1	30,0	31,2	31,5	30,8	31,3
S2P2	30,0	30,9	31,5	30,7	31,1

- Hasil Pengukuran pH pada Uji Penyisihan logam besi oleh Bakteri

Reaktor	Hari ke-				
	0	1	2	3	4
Kontrol 1	7,0	5,2	4,4	4,2	5,1
Kontrol 2	7,0	7,1	7,3	7,2	7,6
S1P1	7,0	6,2	6,2	6,1	6,4
S1P2	5,0	4,3	4,6	4,8	4,9
S2P1	7,0	6,3	6,8	6,8	7,1
S2P2	5,0	4,5	4,8	5,0	5,4

- Hasil Perhitungan Persentase Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri pada Uji Penyisihan logam besi oleh Bakteri

Hari ke-	Konsentrasi Logam Besi (mg/L)					
	Kontrol 1	Kontrol 2	S1P1	S1P2	S2P1	S2P2
0	15,83	0,00	15,83	17,50	15,83	16,66

Hari ke-	Konsentrasi Logam Besi (mg/L)					
	Kontrol 1	Kontrol 2	S1P1	S1P2	S2P1	S2P2
1	-	-	14,16	16,66	3,08	15,83
2	-	-	6,55	16,66	4,48	17,50
3	-	-	6,87	17,50	5,45	19,16
4	11,49	0,00	3,22	17,50	5,04	17,50

Hari ke-	Persentase Penyisihan Logam Besi					
	Kontrol 1	Kontrol 2	S1P1	S1P2	S2P1	S2P2
1	-	-	10,5%	4,8%	80,5%	5,0%
2	-	-	58,6%	4,8%	71,7%	0,0%
3	-	-	56,6%	0,0%	65,6%	0,0%
4	27,4%	0,0%	79,7%	0,0%	68,2%	0,0%

Faktor penyisihan logam besi	Persentase penyisihan	Persentase penyisihan logam besi				
		Kontrol 1	S1P1	S1P2	S2P1	S2P2
Presipitasi logam besi secara fisik	27,4%	27,4%	21,8%	1,3%	22,1%	1,4%
Penyisihan oleh bakteri	72,6%	0,0%	57,8%	3,5%	58,5%	3,6%
Total	100,0%	27,4%	79,7%	4,8%	80,5%	5,0%

- Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri pada Uji Penyisihan logam besi oleh Bakteri

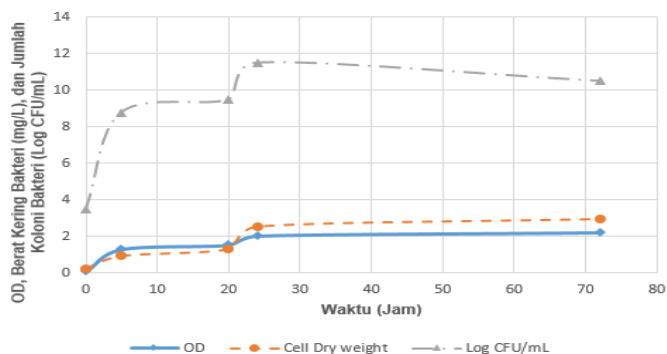
Reaktor	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)		
	24 Jam	72 Jam	96 Jam
Kontrol 1	0	0	0
Kontrol 2	48	73	138
S1P1	43	50	53
S1P2	36	28	30
S2P1	88	69	68

Reaktor	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)		
	24 Jam	72 Jam	96 Jam
S2P2	141	60	40

Reaktor	Jumlah Koloni Bakteri (Log CFU)		
	24 Jam	72 Jam	96 Jam
Kontrol 1	0	0	0
Kontrol 2	8,68	8,68	9,14
S1P1	8,63	8,70	8,72
S1P2	8,56	8,45	8,48
S2P1	8,94	8,84	8,83
S2P2	9,15	8,78	8,60

- Hasil Perhitungan Pengukuran Konsentrasi Biomassa Sel Bakteri

Waktu (Jam)	<i>Optical density</i>	Berat kering bakteri (mg/mL)	Jumlah koloni bakteri (Log CFU/mL)
0	0,09	0,25	3,50
5	1,30	0,95	8,80
20	1,53	1,33	9,50
24	2,04	2,56	11,50
72	2,23	2,98	10,50



- Hasil Perhitungan Berat Kering Bakteri diinterpolasikan dengan Hasil OD dan Jumlah Koloni Bakteri pada Uji Penyisihan logam Besi oleh Bakteri pada Reaktor dengan Penyisihan Terbesar

Waktu (Jam)	Reaktor			
	S1P1		S2P1	
	OD	Berat kering sel (mg/mL)	OD	Berat kering sel (mg/mL)
0	0,096	0,140	0,154	0,152
24	0,094	0,139	0,076	0,136
48	0,086	0,138	0,123	0,145
72	0,065	0,133	0,110	0,142
96	0,295	0,187	0,366	0,207

Waktu (Jam)	Reaktor			
	S1P1		S2P1	
	OD	Berat kering sel (g)	OD	Berat kering sel (g)
0	0,096	0,028	0,154	0,030
24	0,094	0,028	0,076	0,027
48	0,086	0,028	0,123	0,029
72	0,065	0,027	0,11	0,028
96	0,295	0,037	0,366	0,041

Waktu (Jam)	Reaktor			
	S1P1		S2P1	
	Log CFU	Berat kering sel (mg/mL)	Log CFU	Berat kering sel (mg/mL)
0	8,633	1,146	8,944	1,262
72	8,699	1,170	8,839	1,222
96	8,724	1,179	8,833	1,219

Waktu (Jam)	Reaktor			
	S1P1		S2P1	
	Log CFU	Berat kering sel (g)	Log CFU	Berat kering sel (g)
0	1,345	0,229	1,146	0,252
72	1,199	0,234	1,170	0,244
96	1,135	0,236	1,179	0,244

- Hasil Perhitungan Laju Kinetika Penyisihan Logam Besi oleh Bakteri

Jam Ke-	qt (mg/g biomassa)			
	S1P1	S1P2	S2P1	S2P2
24	8,71	1,52	67,89	1,59
48	48,98	1,49	60,26	0,00
72	48,77	0,00	45,77	0,00
96	49,04	0,00	36,20	0,00

S1P1 <i>Pseudo First Order</i>						
t (jam)	qe (mg/g)	qt (mg/g)	log qe	qe-qt	log (qe-qt)	k1
24	49,04	8,71	1,69	40,33	1,61	-0,12321
48	49,04	48,98	1,69	0,06	-1,23	
72	49,04	48,77	1,69	0,27	-0,56	
96	49,04	49,04	1,69	0,00	-2,90	

S2P1 <i>Pseudo First Order</i>						
t (jam)	qe (mg/g)	qt (mg/g)	log qe	qe-qt	log (qe-qt)	k1
24	67,89	67,89	1,83	0,00	-2,90	-0,01819
48	67,89	60,26	1,83	7,63	0,88	
72	67,89	45,77	1,83	22,12	1,34	
96	67,89	36,20	1,83	31,69	1,50	

S1P1					
<i>Pseudo Second Order</i>					
t (jam)	qe (mg/g)	qt (mg/g)	t/qt	t/qe	k2
24	49,04	8,71	2,75	0,49	0,00018
48	49,04	48,98	0,98	0,98	
72	49,04	48,77	1,48	1,47	
96	49,04	49,04	1,96	1,96	

S2P1					
<i>Pseudo Second Order</i>					
t (jam)	qe (mg/g)	qt (mg/g)	t/qt	t/qe	k2
24	67,89	67,89	0,35	0,35	-0,00038
48	67,89	60,26	0,80	0,71	
72	67,89	45,77	1,57	1,06	
96	67,89	36,20	2,65	1,41	

Reaktor	Konsentrasi Awal (mg/L)	<i>Pseudo First Order</i>		
		qe (mg/g)	k₁ (jam⁻¹)	R²
S1P1	15,83	49,04	-0,123	0,7909
S2P1	15,83	67,89	-0,018	0,7139

Reaktor	Konsentrasi Awal (mg/L)	<i>Pseudo Second Order</i>		
		qe (mg/g)	k₂ (mg/g.jam)	R²
S1P1	15,83	49,04	0,00018	0,1048
S2P1	15,83	67,89	-0,00038	0,9668

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BIOGRAFI PENULIS



Penulis bernama lengkap Rizky Islami Putera. Penulis dilahirkan di Banjarmasin pada tanggal 10 Agustus 1996. Penulis merupakan anak pertama dari 2 bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal di SD Negeri Teluk Dalam 4 Kota Banjarmasin, SMP Negeri 1 Kota Banjarmasin, dan SMA Negeri 1 Kota Banjarmasin. Pada tahun 2014 penulis melanjutkan pendidikan strata sarjanannya di Departemen Teknik Lingkungan FTSLK ITS Surabaya dengan NRP 3314100003.

Semasa kuliah penulis aktif sebagai staff Departemen Riset dan Teknologi HMTL ITS periode 2015-2016, staff Tim Kerohanian Al-Kaun periode 2015-2016, dan Wakil Ketua Himpunan Mahasiswa Teknik Lingkungan (HMTL) ITS Bidang Relasi Organisasi Periode 2016-2017 serta sebagai asisten laboratorium praktikum Mikrobiologi Lingkungan dan Teknik Analisis Pencemar Lingkungan (TAPL). Penulis aktif di berbagai kegiatan baik di dalam maupun di luar kampus ITS. Beberapa kegiatan yang diikuti adalah menjadi peserta *Sepuluh Nopember Youth Camp* yang diadakan oleh Kementrian PSDM BEM ITS, menjadi peserta *Youth For Climate Camp* 2015 yang diadakan oleh UKP-PPI, dan mengikuti pelatihan Sistem Manajemen Keselamatan dan Kesehatan Kerja (SMK3). Penulis berkesempatan menjalankan Kerja Praktik tahun 2017 di PT. Pertamina EP Asset 3 *Field* Jatibarang, Indramayu untuk melakukan studi dan evaluasi pengelolaan limbah Berbahaya dan Beracun (B3). Penulis juga mengajukan PKM Kementistek Dikti bidang Kewirausahaan dan Pengabdian Masyarakat Tahun 2016/2017, dengan predikat didanai. Penulis dapat dihubungi melalui email rizkyislami10@gmail.com.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)